Mario Hiroyuki Hirata
Rosario Dominguez Crespo Hirata
Jorge Mancini Filho

Manual de BIOSSEGURANÇA



2ª edição
revisada e ampliada

Manole

Manual de Biossegurança

Manual de Biossegurança

Mario Hiroyuki Hirata
Rosario Dominguez Crespo Hirata
Jorge Mancini Filho

2ª edição
revisada e ampliada

Manole

Copyright © Editora Manole Ltda., 2012, por meio de contrato com os editores.

Capa: Departamento de arte da Editora Manole
Ilustrações: Joaquim Procópio de Araújo Neto
Rafael Zemantauskas
Editoração eletrônica: Luargraf Serviços Gráficos

Este livro contempla as regras do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990, que entrou em vigor no Brasil.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Manual de Biossegurança / editores Mario Hiroyuki Hirata, Rosario Dominguez Crespo Hirata, Jorge Mancini Filho — Barueri, SP : Manole, 2012.

Vários autores.
Bibliografia.
ISBN 978-85-204-5002-4

1. Biossegurança 2. Biologia I. Hirata, Mario Hiroyuki. II. Hirata, Rosario Dominguez Crespo. III. Mancini Filho, Jorge.

07-6310 CDD-616.0756

Índices para catálogo sistemático:
1. Biossegurança : Laboratórios
616.0756

Todos os direitos reservados.
Nenhuma parte deste livro poderá ser reproduzida, por qualquer processo, sem a permissão expressa dos editores. É proibida a reprodução por xerox.

A Editora Manole é filiada à ABDR – Associação Brasileira de Direitos Reprográficos.

1ª edição – 2002
2ª edição – 2012; reimpressão revisada e atualizada – 2014

Editora Manole Ltda.
Av. Ceci, 672 – Tamboré
06460-120 – Barueri – SP – Brasil
Tel.: (11) 4196-6000 – Fax: (11) 4196-6021
www.manole.com.br
info@manole.com.br

Impresso no Brasil
Printed in Brazil

Dedicatória

A Deus...

Aos nossos familiares por condicionarem a paz e a felicidade de tê-los por perto.

A verdadeira ciência é sempre inspirada pela biossegurança.

Hirata, MH

Sobre os editores

Mario Hiroyuki Hirata

Professor Titular
Presidente da Comissão Interna de Biossegurança
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
Membro suplente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), especialista na área de Saúde

Rosario Dominguez Crespo Hirata

Professora Titular
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Jorge Mancini Filho

Professor Titular
Diretor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Sobre os colaboradores

Adalberto Pessoa Júnior

Professor Titular
Membro da Comissão Interna de Biossegurança da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Alfredo Tenuta Filho

Professor-Associado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Bronislaw Polakiewicz

Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Bruna C. Santos

Bacharel em Ciências Biológicas
Especialista em Microbiologia pela FTESM

Carlos Henrique de Mesquita

Professor Doutor
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
Pesquisador da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN)

Célia Colli

Professora Doutora
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Cristina Moreno Fajardo

Química e técnica de laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Dalva Assunção Portari Mancini

Pesquisadora Científica
Diretora do Laboratório de Virologia da Divisão de Desenvolvimento Científico do Instituto Butantã

Denise Mayumi Cobaiashi

Pós-graduanda em Ciências dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Dirce Akamine

Mestre pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
Presidente do grupo EMEDE

Ederson Akio Kido

Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas
Doutor em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura)
Professor Adjunto da Disciplina de Genética Molecular do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Elsa Masae Mamizuka

Professora Doutora
Membro da Comissão Interna de Biossegurança da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Fernando Henrique Lojudice

Pós-doutorando do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Fernando Salvador Moreno

Professor Titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Flávia de Moura Prates Ong

Chefe de Seção do Biotério de Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP) e do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Flavio Finardi Filho

Mestre e Doutor em Ciência dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
Especialista em Biotecnologia aplicada a alimentos
Professor-Associado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)
Membro da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio)

Francisco Gorgonio da Nobrega

Pesquisador da Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Membro da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio)

José Abrahão Neto

Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Juliana Andréa de Oliveira Georges

Mestre em Produção e Gestão Agroindustrial
Embriologista do Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL) do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Leila Macedo Oda

Pesquisadora Titular da Fiocruz
Doutora em Microbiologia e Imunologia
Presidente da Associação Nacional de Biossegurança

Ligia Bicudo de Almeida-Muradian

Professora-Associada
Membro da Comissão de Descartes Laboratoriais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Lygia da Veiga Pereira

Física pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ)
Professora-Associada e chefe do Laboratório Nacional de Células-Tronco Embrionárias (LaNCE) do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP)

Luciene Fagundes Lauer Macedo

Farmacêutica-bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Luziane C.A. Guinski Chaguri

Pesquisadora científica do Laboratório de Bioquímica e Biofísica, Centro de Toxinologia Aplicada, CEPID-FAPESP, Instituto Butantã.

Marcia Almeida de Melo

Mestre em Medicina Veterinária preventiva pela Universidade Federal de Minas Gerais
Doutora em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz)
Professora Adjunta da disciplina de Introdução à Biologia Celular e Molecular e Imunologia Veterinária da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade de Campina Grande

Mari Cleide Sogayar

Professora Titular do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)
Coordenadora do Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL) do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Marluce da Cunha Mantovani

Biomédica
Especialista em Laboratório do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Mauri Sergio Alves Palma

Professor Doutor
Presidente da Comissão Interna de Descartes Laboratoriais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Nádia Araci Bou-Chacra

Professora Doutora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Patrícia Busko di Vitta

Doutora em Ciências – Química Orgânica
Encarregada do Setor Técnico de Tratamento de Resíduos do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Paulo Paes de Andrade

Professor Adjunto do Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Rebecca Kristina Kiyokawa

Estagiária de iniciação científica na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Renata Spalutto Fontes

Chefe de Seção do Biotério de Produção da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP) e do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Renato Heidor

Mestre e especialista do Laboratório de Dieta, Nutrição e Câncer da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira

Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Silvânia M. P. Neves

Diretora do Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP) e do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)

Sinara Bakes

Mestre em Ciência dos Alimentos
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Telma Mary Kaneko

Professora Doutora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Terezinha de Jesus Andreoli Pinto

Professora Titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Thomas Prates Ong

Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Vladi Olga Consiglieri

Professora Doutora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Yara Maria Lima Mardegan

Membro da Comissão Interna de Biossegurança
Assistente Técnico de Direção da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP)

Sumário

Apresentação xv
Apresentação da 1ª edição xvii
Prefácio de Edilson Paiva xxi
Prefácio de Walter Colli xxiii
Prefácio da 1ª edição xxv
Agradecimentos xxvii

1. O laboratório de ensino e pesquisa e seus riscos 1
Mario Hiroyuki Hirata

2. Biossegurança em laboratórios. 13
Rosario Dominguez Crespo Hirata

3. Equipamentos de proteção individual e coletiva. 29
Ligia Bicudo de Almeida-Muradian

4. Manuseio, controle e descarte de produtos biológicos. 43
Elsa Masae Mamizuka, Mario Hiroyuki Hirata

5. Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos. 67
Mauri Sergio Alves Palma, Patrícia Busko di Vitta

6. Biossegurança no uso de radioisótopos 107
Célia Colli, Carlos Henrique de Mesquita

7. Organismos geneticamente modificados na alimentação humana 123
Flavio Finardi Filho, Denise Mayumi Cobaiashi, Sinara Bakes

8. Biossegurança em medicamentos, correlatos e cosméticos. 131
Terezinha de Jesus Andreoli Pinto, Telma Mary Kaneko, Nádia Araci Bou-Chacra, Dirce Akamine

9. Biossegurança e câncer 151
Fernando Salvador Moreno, Renato Heidor, Thomas Prates Ong

10. Legislação aplicada às atividades desenvolvidas em laboratórios de ensino e pesquisa 165
Yara Maria Lima Mardegan

11. Riscos ocupacionais devido aos agentes químicos 183
Vladi Olga Consiglieri

12. Biossegurança em biotérios 193
Silvânia M. P. Neves, Luziane C. A. Guinski Chaguri, Renata Spalutto Fontes, Flávia de Moura Prates Ong

13. Biossegurança em biotecnologia industrial. . .213
Adalberto Pessoa Júnior, Bronislaw Polakiewicz, José Abrahão Neto, Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira

14. Ações de biossegurança no contexto da gestão da qualidade 233
Alfredo Tenuta Filho, Luciene Fagundes Lauer Macedo

15. Garantia da qualidade e biossegurança em centros de tecnologia celular para fins de pesquisa clínica e terapia celular e molecular . . 253
Mari Cleide Sogayar, Fernando Henrique Lojudice, Marluce da Cunha Mantovani

16. Biossegurança em centros de tecnologia celular 267
Lygia da Veiga Pereira, Juliana Andréa de Oliveira Georges

17. Biossegurança e meio ambiente 275
Paulo Paes de Andrade, Ederson Akio Kido, Marcia Almeida de Melo

18. Objeção às plantas geneticamente modificadas 285
Francisco Gorgonio da Nobrega

19. Memórias da biossegurança e biosseguridade: de Asilomar à biologia sintética 295
Leila Macedo Oda, Bruna C. Santos

20. Biossegurança em laboratório de virologia . . . 307
Dalva Assunção Portari Mancini

21. Biossegurança em laboratórios de biologia molecular 321
Cristina Moreno Fajardo, Rebecca Kristina Kiyokawa

22. Biossegurança em nanotecnologia 331
Vladi Olga Consiglieri

Glossário 341
Índice remissivo 347

Apresentação

Inicialmente, quero manifestar, nesta segunda gestão como Diretor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), a minha satisfação em poder fazer a apresentação desta 2ª edição do *Manual de Biossegurança*.

Como já destacado na apresentação da 1ª edição, este livro é fruto do trabalho conjunto e interativo de professores e funcionários da FCF-USP e de outras instituições. O grande interesse pela publicação inicial foi a maior motivação para elaboração desta 2ª edição, com atualização e ampliação dos diferentes tópicos, e a inclusão de capítulos novos.

A responsabilidade e a preocupação da FCF-USP com o meio ambiente e com os avanços da Ciência, ficaram bem demonstrados nos trabalhos iniciados, em 1996, pela Comissão de Descartes Laboratoriais e, em 1998, pela Comissão Interna de Biossegurança (CIBio). Essas comissões realizaram vários Simpósios de Biossegurança e Descartes de Resíduos Químicos e Perigosos em Instituições de Ensino e Pesquisa, e, agora, novembro de 2011, está sendo realizada a sua 10ª edição.

Da mesma forma que ocorreu com os Simpósios de Biossegurança realizados na FCF-USP, em que houve uma ampliação qualitativa e quantitativa dos participantes das diversas regiões do País, a segunda edição deste livro também está ampliada tanto no aspecto quantitativo, porquanto conta com a participação de 42 colaboradores na elaboração dos seus 22 capítulos sobre biossegurança, como qualitativo, pois foi norteada por uma avaliação minuciosa e cuidadosa de seus capítulos e a inclusão de oito novos capítulos com foco em preocupações inerentes ao meio ambiente e à integridade física de alunos, funcionários, professores e pesquisadores, envolvidos em trabalhos laboratoriais.

Na 1ª edição, as abordagens nos seus diferentes capítulos foram direcionadas para aspectos intrínsecos relacionados com os riscos inerentes aos laboratórios de ensino, pesquisa e de rotina, a biossegurança nesses laboratórios; os equipamentos de proteção tanto individual como coletiva; o manuseio, controle e descartes de produtos químicos e biológicos; a biossegurança na utilização de radioisótopos; o emprego de organismos geneticamente modificados na alimentação humana, a fabricação de medicamentos, correlatos e cosméticos; a biossegurança e o câncer; a Legislação aplicada às atividades desenvolvidas em laboratórios de ensino e de pesquisa; os riscos ocupacionais devidos aos agentes químicos, a biossegurança em biotérios e em biotecnologia industrial e as ações de biossegurança no contexto da gestão de qualidade.

Nesta nova edição, esses mesmos capítulos receberam atenção especial visando à atualização minuciosa de todos os aspectos neles abordados, destacando-se a importância, cada vez maior, de conhecer a biossegurança com detalhes, pois ela está presente no dia a dia de todos.

Os avanços no conhecimento induziram a ampliação das abordagens feitas na 1ª edição, com a inclusão de oito novos capítulos.

No capítulo sobre biossegurança e garantia da qualidade em centros de tecnologia celular (CTC) para fins

de pesquisa clínica e terapia celular e molecular, são destacados os requisitos técnico-sanitários mínimos, para se trabalhar adequadamente com células humanas e seus derivados disponibilizados para pesquisa clínica e terapia, amparados pela RDC (n. 9/2011) da ANVISA, Agência Regulatória Nacional.

Ainda sobre biossegurança em centros de tecnologia celular são discutidas as características específicas e aplicações das células-tronco adultas e embrionárias e os aspectos da biossegurança na geração, produção e uso dessas células.

A biossegurança e o meio ambiente também estão contemplados nesta edição, equacionando-se diversos aspectos na utilização de plantas transgênicas, dos organismos geneticamente modificados no preparo de vacinas, de testes diagnósticos e na produção de enzimas, hormônios e óleo combustível.

As objeções às plantas geneticamente modificadas (PGM) são apresentadas dentro da ótica de discussão da suposta natureza artificial da modificação genética específica, os riscos em virtude da natureza aleatória do local de inserção, do perigo dessas plantas produzirem produtos tóxicos ou alérgicos, entre outros.

A apresentação das memórias da biossegurança e biosseguridade: de Asilomar à biologia sintética, descreve o histórico da biossegurança, a conferência de Asilomar, dados históricos do Brasil sob a perspectiva de risco, a origem da lei de biossegurança brasileira, os marcos regulatórios sobre os organismos geneticamente modificados no Brasil nos dias de hoje, a percepção pública da biossegurança no cenário brasileiro, a capacitação de recursos humanos, a biosseguridade e a regulamentação da biologia sintética – novos riscos, novos desafios.

No capítulo sobre biossegurança em laboratórios de virologia, são apresentados os principais cuidados que devem ser considerados para se evitar a contaminação tanto dos manipuladores quanto do meio ambiente. Destacando-se: a proteção individual e do ambiente de trabalho, a manipulação de material infeccioso, os procedimentos que podem oferecer riscos de contaminação, o controle adequado do laboratório e o treinamento das pessoas que trabalham com vírus, a ocorrência de infecções adquiridas em laboratório, entre outros.

No capítulo sobre a biossegurança em laboratórios de biologia molecular, são destacados os cuidados cotidianos que devem ser tomados no controle de riscos biológicos, químicos e físicos, visando sempre à proteção do operador e do meio ambiente e à diminuição dos riscos de contaminação de reagentes e amostras.

Na caracterização da biossegurança em nanotecnologia, são apresentados os principais tipos de nanopartículas e seus efeitos biológicos e ambientais, os aspectos toxicológicos e da biossegurança dos materiais nanoparticulados e os principais métodos analíticos empregados para estudar os aspectos toxicológicos mais relevantes das nanopartículas.

Os cuidados tomados pelos autores na elaboração dos diferentes capítulos podem ser bem identificados pelo número expressivo e atualização das referências bibliográficas, bem como os endereços eletrônicos citados. Mais uma vez, destaco que este *Manual de Biossegurança* dá expresso suporte para a realização de trabalhos em laboratórios de serviços de rotina, de ensino ou de investigação científica, sendo um material indispensável na realização de atividades nesses setores.

Prof. Dr. Jorge Mancini Filho
Diretor
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Apresentação da 1ª edição

Este livro foi escrito a partir de um esforço conjunto de professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Na sua elaboração, diversas reuniões foram realizadas, com o objetivo de uniformizar a linguagem, dentro de uma filosofia voltada à adequada dimensão do tema Biossegurança.

A maior preocupação dos autores em redigir os vários capítulos foi poder transmitir de forma objetiva e simples a base científica da Biossegurança, permitindo que alunos e profissionais possam estimar, com a devida amplitude, os fatores envolvidos com esse tema.

Cumpre-nos destacar que o início da abordagem da Biossegurança na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP está associado ao trabalho cooperativo, que se iniciou em 1996 visando aos descartes laboratoriais, tendo em vista que um dos problemas que causavam grande inquietação entre os professores e os funcionários era o destino a ser dado aos resíduos gerados em cada laboratório de ensino e de pesquisa da Faculdade, objetivando a preservação do meio ambiente.

Podemos com satisfação afirmar que o trabalho iniciado em 1996, com a Comissão de Descartes Laboratoriais, está atendendo plenamente a seus objetivos, tanto que em 1999 foi realizado na Universidade de São Paulo o I Simpósio sobre Descartes Laboratoriais de Produtos Químicos e Perigosos em Instituições de Ensino e Pesquisa, que contou com a participação de mais de 400 pessoas preocupadas com o meio ambiente. Ainda com a mesma filosofia de trabalho cooperativo, foi formada a Comissão de Biossegurança da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, visando, além da proteção do meio ambiente, à preservação da integridade física dos alunos, funcionários e professores, envolvidos com trabalhos laboratoriais. Da mesma forma que a Comissão de Descartes, a Comissão de Biossegurança também está atingindo suas metas. Em 2000, por exemplo, realizou o I Encontro de Biossegurança em Instituições de Ensino e Pesquisa, com a participação de um número expressivo de participantes, e está atualmente sistematizando uma série de atividades que visam a avaliações periódicas do trabalho que equaciona a Biossegurança na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, analisando objetivamente todos os fatores pertinentes ao tema.

Portanto, a dinâmica estabelecida na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP que envolve funcionários, alunos e professores faz com que o tema Biossegurança esteja diariamente no centro de todas as atenções, permitindo que a grande quantidade de informações sobre Biossegurança seja compartilhada por todos.

Na elaboração deste livro houve a participação de 23 colaboradores nominados e um número muito superior dos que no anonimato apresentaram sua colaboração, visando transmitir mais informações que objetivam a Biossegurança.

O capítulo inicial caracteriza o laboratório de ensino e pesquisa e seus riscos, abordando os principais riscos físicos, biológicos, químicos, ergonômicos e de acidentes. Identifica as devidas recomendações na elaboração de projetos visando à adequação da Biossegurança.

No Capítulo 2, são identificadas de forma sistemática as principais casuísticas relacionadas com a organização das atividades no laboratório, objetivando tanto

a preservação da integridade física do analista como a garantia da fidelidade da análise. São apresentados ainda quadros que visam à orientação do planejamento das atividades laboratoriais. Avalia as principais características das instalações de um laboratório analítico e identifica a descrição das cores adotadas na delimitação das áreas de laboratório e os níveis de contenção física. Indica também a classificação dos principais riscos ocupacionais por grupos e ainda os procedimentos de segurança em situações emergenciais.

No Capítulo 3, estão abordados os principais aspectos que visam à segurança em laboratórios didáticos e da área de saúde. Identifica a importância da avaliação periódica do estado de saúde dos trabalhadores de acordo com as normas do Ministério do Trabalho.

O Capítulo 4 caracteriza os equipamentos necessários, objetivando tanto a proteção individual como a coletiva, para uso em laboratórios analíticos. Identifica os equipamentos de segurança imprescindíveis em um laboratório e cita exemplos de diversos sistemas de proteção.

Os riscos biológicos induzidos por diferentes tipos de agente estão apresentados no Capítulo 5. Neste capítulo encontra-se a classificação de acordo com o grupo de risco do agente infeccioso. Indica os métodos de coleta de amostras para monitoramento de Biossegurança em atividades biotecnológicas e os procedimentos de descarte em laboratórios de microbiologia.

O manuseio e o descarte de resíduos e produtos químicos são abordados no Capítulo 6. Avaliam-se os riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública de produtos químicos normalmente utilizados pelo setor industrial e pelos serviços de saúde. Nestes os resíduos são classificados quanto a periculosidade individual. Ensina também a forma correta de identificação e rotulagem dos materiais de descartes, bem como a adequação dos recipientes de coleta, contenção, apassivação e destino dos resíduos químicos produzidos em laboratórios.

Os riscos ocupacionais devidos aos agentes químicos estão contemplados no Capítulo 7. Caracterizam-se a periculosidade das substâncias químicas, a relação dose/efeito, as medidas preventivas e de controle da exposição aos diferentes grupos de agentes químicos.

A Biossegurança no uso de radioisótopos está analisada no Capítulo 8, onde informações básicas são apresentadas visando à caracterização dos isótopos e dos radioisótopos e à interação das radiações com a matéria. Identifica também a relação risco/benefício no uso de materiais radioativos.

Nos Capítulos 9 e 10, são analisados o manuseio e o descarte dos organismos geneticamente modificados e os alimentos geneticamente modificados, respectivamente. Nesses capítulos são apresentados os principais aspectos da Biossegurança na utilização dos organismos geneticamente modificados, caracterizando a importância da adoção de normas de amplitude internacional que possam garantir a proteção do meio ambiente e a preservação da saúde humana. São também caracterizados os tipos de modificações genéticas e as principais técnicas de suas identificações.

Os riscos envolvidos na preparação de medicamentos, correlatos e cosméticos estão apresentados no Capítulo 11. Identificam-se os critérios para caracterização de risco, o risco ocupacional e as respectivas formas de avaliação ocupacional, que envolvem a fabricação e o manuseio de medicamentos, cosméticos e correlatos. Analisa os cuidados especiais que devam ser tomados com as substâncias de risco.

No Capítulo 12, é abordado o tema câncer. Apresentam-se as estimativas de câncer no Brasil e no mundo, identificando a carcinogênese e os processos envolvidos no desenvolvimento dessa doença. Mostra a etiologia do câncer, caracterizando o envolvimento de processos biológicos, genéticos, físicos e químicos. Descreve a relação da incidência de algum tipo de câncer com o ambiente de trabalho, pontuando a atividade em laboratórios e o risco de câncer, avaliando as formas adequadas de sua prevenção. Diversas citações são dadas com a finalidade de fornecer maiores orientações do uso adequado de substâncias carcinogênicas.

A Biossegurança em biotérios é estudada no Capítulo 13. Tópicos que identificam a Biossegurança em salas de animais, as barreiras de controle, a padronização dos animais, as normas de higiene, os programas de segurança e saúde, o risco biológico, os cuidados básicos para o uso de animais de laboratório, os danos físicos e perigos químicos relacionados com o manejo de animais estão relacionados neste capítulo. Destacam-se também quais procedimentos devem nortear os descartes dos materiais utilizados em biotérios. Apresenta ainda os níveis de risco associados com o uso de animais de laboratório, os critérios para classificação de grupos de risco por agentes biológicos e os níveis de Biossegurança e as práticas operacionais padronizadas, para trabalhar com segurança em cada nível. Este capítulo contempla também as normas para trabalho em contenção com animais geneticamente modificados.

A redução ou eliminação dos riscos de Biossegurança na utilização da biotecnologia industrial estão apresentadas no Capítulo 14. A identificação dos diferentes riscos à saúde ou ao meio ambiente permite estabelecer os níveis de contenção a que deve ser submetido o processo biotecnológico. Com essa perspectiva é apresentado este capítulo, com análises pontuais de aspectos envolvidos no sistema de integração de construções seguras. Também são analisados a Biossegurança na produção de soros e vacinas e os riscos biológicos a ela inerente.

As ações de Biossegurança no contexto da gestão da qualidade estão avaliadas no Capítulo 15. Ele aborda diversos tópicos da qualidade total, destacando-se sua evolução, a origem, o gerenciamento e os princípios de gestão. São apresentados os principais programas de qualidade e a análise de perigos e pontos críticos de controle, incorporados aos propósitos da garantia de qualidade de produtos e serviços. É discutida a Biossegurança como item da qualidade dentro da ótica de ações voltadas ao gerenciamento integrado à qualidade total.

O Capítulo 16 aborda o tema da legislação pertinente à Biossegurança, indicando os documentos legais que normatizam as práticas em laboratórios na área da saúde, bem como a legislação específica para o uso de técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados.

Os destaques relativos aos diferentes capítulos apresentados nesta introdução dão condições de avaliar a importância deste livro sobre a Biossegurança. As 400 referências bibliográficas e os endereços eletrônicos citados caracterizam bem o elevado nível científico de abordagem utilizado pelos autores, em que verticalizam os diversos aspectos relacionados com esse tema. Portanto, este livro torna-se um manual indispensável de Biossegurança para todos os laboratórios onde são realizados trabalhos de pesquisa, de ensino ou de rotina, com produtos químicos, material biológico, medicamentos, cosméticos e correlatos, radioisótopos e organismos geneticamente modificados.

Prof. Dr. Jorge Mancini Filho
Diretor da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade
de São Paulo

Prefácio de Edilson Paiva

O Brasil vivencia neste século um desenvolvimento econômico e social sem precedentes: a elevada produção agroindustrial, o aumento das exportações, o investimento no setor produtivo, a redução do risco Brasil etc. Todos estes índices econômicos foram alcançados ao mesmo tempo em que alcançamos importantes melhorias nos índices sociais, como a redução da pobreza, o aumento da escolaridade média, o reforço ao ensino superior e o aumento da esperança de vida. Esse desenvolvimento veio acompanhado da adoção de novas tecnologias, entre elas a biotecnologia. Trouxe consigo, também, uma grande ampliação dos serviços médico-hospitalares e uma preocupação crescente com o meio ambiente. Por fim, setores tradicionais que envolvem riscos biológicos diversos ganharam renovado impulso, ampliando significativamente as preocupações com a biossegurança, dentro e fora do ambiente de trabalho. Concomitantemente, a pesquisa básica e de desenvolvimento foi muito fortalecida nas universidades e centros de pesquisa no país, com ênfase no crescimento das áreas de ciências biológicas, agrárias, ambientais e de saúde, o que ampliou o leque de riscos biológicos possíveis e contribuiu para o aumento na preocupação global sobre biossegurança no país.

Dessa forma, tanto o setor privado quanto o de geração de conhecimentos terão, nesta nova edição do *Manual de biossegurança*, uma rica fonte de informações para consulta frequente. A nova edição traz novos capítulos, que ampliam a visão e os procedimentos de biossegurança para além dos temas anteriormente abordados, incluindo agora os temas, tanto modernos quanto polêmicos, da terapia celular, do impacto dos organismos geneticamente modificados (OGM) no ambiente, da nanotecnologia e das terapias baseadas em células-tronco. Mais uma vez, os editores acertaram no alvo e brindaram os brasileiros com uma importante obra em biossegurança.

Edilson Paiva
Presidente da Comissão Técnica
Nacional de Biossegurança (CTNBio)
entre 2010 e 2012

Prefácio de Walter Colli

Com o aumento da complexidade de procedimentos em atividades técnicas que exigem cuidados especiais a fim de evitar danos a operadores e circunstantes, bem como ao ambiente e às populações em geral, a Biossegurança torna-se uma disciplina cada vez mais presente e necessária.

Embora a palavra *biossegurança* seja usada pelo leigo quase como sinônimo das atividades ligadas a organismos geneticamente modificados, tendo, inclusive, a comissão que analisa esses organismos o nome de Comissão Técnica de Biossegurança, o termo é aplicável a todas as atividades humanas, laboratoriais ou industriais que envolvam risco, seja na segurança alimentar ou na manipulação de microrganismos, células em cultivo, substâncias químicas, substâncias tóxicas, explosivos, entre outras.

O risco é função da probabilidade de ocorrência de efeito adverso, bem como da severidade desse efeito. Não há atividade alguma em que o risco seja zero. Por isso, a adoção de medidas preventivas que minimizem a incerteza faz-se necessária a fim de identificar, medir e mitigar os riscos. Disso decorre a extrema importância desta obra que amplia e renova a edição anterior, contendo abordagens mais abrangentes e tratadas em maior profundidade.

O leitor, ao compulsá-la, verá que seus autores não desprezaram setor algum das atividades humanas que possam, em maior ou menor grau, envolver riscos. Os capítulos se sucedem informando o leitor sobre a simbologia de aviso dos diversos tipos de risco, os equipamentos de proteção individual e coletiva, a classificação de risco de microrganismos e níveis de biossegurança correspondentes e a importância dos aerossóis na disseminação de microrganismos. Discutem-se ainda a melhor forma de manusear produtos químicos e radiativos, as formas de descarte e as leis que regulamentam esses assuntos. Há capítulos sobre segurança alimentar de organismos geneticamente modificados e uma exaustiva discussão dos riscos associados à preparação de medicamentos, correlatos e cosméticos e a toxicologia e a farmacologia envolvidas, bem como a legislação pertinente. Ainda, há dois capítulos, um com reflexões sobre as razões das objeções contra as plantas geneticamente modificadas e o outro de memórias sobre a evolução dos conceitos de biossegurança e biosseguridade desde a conferência de Asilomar até os dias de hoje.

Com o Brasil mais presente no mundo das atividades modernas, um Manual de Biossegurança com a qualidade deste será fundamental para indústrias químicas e farmacêuticas, como guia para o emprego de boas práticas de fabricação e adoção de programas de qualidade total, bem como para a sistematização de riscos ocupacionais mormente aqueles referentes à toxicologia ocupacional. Empresas, universidades e institutos que lidam com animais de laboratório e biotérios aqui encontram um balizamento sobre o assunto. O manual não esqueceu de introduzir um capítulo sobre a biossegurança e o meio ambiente em face da aplicação da Lei n. 11.105/2005 e de toda a legislação hierarquicamente inferior dela decorrente. Finalmente, este verdadeiro tratado de biossegurança discute áreas específicas como os cuidados com a tecnologia de manipulação

de células, inclusive células-tronco, a terapia celular, os fatores de indução de câncer, a manipulação de vírus, a nanotecnologia e a biologia molecular.

Enfim, esta é uma obra completa que deve ser compulsada por laboratórios de universidades, institutos e empresas, laboratórios clínicos, laboratórios de pesquisa, indústrias químicas e farmacêuticas, biotérios e por todos aqueles, enfim, que militam na vasta área da Biotecnologia e das disciplinas que a constituem, como a Química, a Biologia e a Microbiologia.

Walter Colli
Presidente da Comissão Técnica
Nacional de Biossegurança (CTNBio)
entre 2006 e 2009

Prefácio da 1ª edição

É natural que a reflexão sobre segurança em laboratório surja na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF-USP. A vocação histórica desta Faculdade sintetiza a preocupação criativa sobre a manipulação de produtos com o objetivo de manter a saúde, prevenir e colaborar com a cura das doenças. Mais do que um manual de procedimentos, este livro inclui detalhada análise sobre prevenção, análise de risco, comportamento e procedimentos em situações de emergência, bem como manuseio e descarte de produtos químicos e biológicos, incluindo os geneticamente modificados. A separação em capítulos que tratam de problemas específicos favorece e simplifica o seu uso em situações laboratoriais muito diferentes e mostra a interdisciplinaridade que caracteriza a FCF-USP.

O trabalho de coordenação deste volume se relaciona diretamente com uma atividade acadêmica onde a ética não constitui somente um discurso, mas se constrói no cotidiano do fazer científico. Ao criar e transmitir uma preocupação com a segurança e o respeito pelo ambiente, os alunos da FCF-USP também se formam como cidadãos. Este livro estende esta atitude e os procedimentos que a sustentam para toda a comunidade. Esta reflexão coletiva de docentes e funcionários da FCF-USP é um importante objeto cultural que exemplifica, na prática, uma concepção de Universidade Pública que, a partir de operações sobre o conhecimento, contribui para a construção de uma sociedade mais consciente e, por decorrência, mais justa. A USP mostra, mais uma vez, que a sua inserção na sociedade brasileira se faz a partir da fronteira do conhecimento. As propostas de procedimentos e políticas descritas neste volume, se adotadas, devem certamente contribuir para o bem-estar de todos.

Hernan Chaimovich
Pró-Reitor de Pesquisa da USP

Agradecimentos

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), que tem mantido a confiança em nosso trabalho.

Ao Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, pelo apoio e confiança, em nome dos seus diretores.

À Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), pela acolhida como membro da comissão e pela confiança.

Aos membros da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) da FCF-USP, pelo apoio.

Aos colaboradores desta obra tão importante para a educação em biossegurança.

Aos grandes e saudosos mestres, pela ética e retidão, Alexandre La Rocca Rossi, Bruno Strufaldi (*in memoriam*), Durval Mazzei Nogueira (*in memoriam*) e Paulo Suyoshi Minami (*in memoriam*).

Às secretárias da Assistência Administrativa da FCF-USP, Ana e Dionete.

Aos alunos do Laboratório de Biologia Molecular Aplicado ao Diagnóstico e Farmacogenética (LABMAD), pela paciência, permitindo a nossa dedicação a esta obra.

À companheira de trabalho Cristina Fajardo, pela dedicação ao LABMAD.

Aos Órgãos de Fomento à Pesquisa: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos funcionários do setor da informática, pelo apoio no nosso trabalho.

Aos funcionários da FCF-USP, pelo constante auxílio.

À Amarylis Manole, pelo apoio sempre constante.

capítulo 1

O laboratório de ensino e pesquisa e seus riscos

Mario Hiroyuki Hirata

INTRODUÇÃO

O ensino e a pesquisa são atividades que proporcionam situações singulares a equipes que exercem tais funções, seja como professor, cientista, técnico, entre outros profissionais de apoio, que necessitam ter criatividade, flexibilidade e alto poder de improvisação. Na prática, criam, estabelecem metas, gerenciam, executam, concluem e, finalmente, modificam o que se julgava bem qualificado. Têm em suas atividades a verdadeira arte de induzir novos raciocínios, estabelecer mudanças em paradigmas e levar a abertura da mente para algo maior e melhor para a humanidade. A flexibilidade, a variabilidade de procedimentos e a singularidade com que exercem suas funções são notórias.

Considerando um profissional que exerce suas atividades em um laboratório de aula prática, é bem fácil deduzir que a organização deve ser muito bem estabelecida, planejada e descrita de forma clara, com detalhes para um principiante naqueles procedimentos. O material a ser utilizado nos procedimentos deve ser muito bem identificado e ter ordem física e cronológica bem estabelecida, o que logo traz à mente a necessidade de um procedimento padrão, com informações específicas, que deve proporcionar sucesso a meta da aula. Entretanto, com pouca noção de como executar aquele procedimento com características inusitadas para toda a plateia, logo se deduz a probabilidade de acontecer inúmeras variações nas interpretações de cada indivíduo, gerando uma verdadeira atividade múltipla e bastante controversa. Desse modo, as características dos laboratórios de ensino e pesquisa se diferenciam de outros, em razão, principalmente, da variabilidade de seus frequentadores, além da diversidade de procedimentos que devem ser executados por esse contingente de pensadores, seja formado por iniciantes, juniores ou seniores. A manipulação de produtos químicos (solventes orgânicos, tóxicos, abrasivos, irritantes, inflamáveis, voláteis, cáusticos, entre outros), microrganismos, células de eucariotos, células transfectadas com plasmídeos virais, fagos e seus derivados, metazoários, artrópodes, com risco de infectividade e morbidade, animais de pequeno e médio porte, plantas levam à exposição e ao risco de contaminação e acidentes. Incluem também as amostras biológicas de origem desconhecida. Atualmente, em virtude de os laboratórios de pesquisa estarem envolvidos significativamente com OGM como modelos experimentais também se tornam complexos em relação a contenção, manipulação e descartes. Portanto, os cuidados a serem tomados pelos usuários e o gerenciamento pelos administradores devem ser muito maiores.

Sem dúvida, a biossegurança não pode, nesse caso, restringir-se aos cuidados com os organismos geneticamente modificados, que merecem uma atenção ainda maior, mas deve apresentar uma abordagem mais ampla da segurança geral, tanto para os alunos como para os professores e funcionários técnicos ou administrativos, por estarem todos envolvidos no trabalho universitário

de ensino e pesquisa, além da prestação de serviços. Assim, o termo *biossegurança* deve ser adotado como a ciência voltada para o controle e a minimização de riscos advindos da prática de diferentes tecnologias, seja em laboratórios, biotérios ou no meio ambiente.

O fundamento básico da biossegurança é assegurar o avanço dos processos tecnológicos e proteger a saúde humana, animal e o meio ambiente (Ministério do Meio Ambiente). Para obter instruções sobre a construção de um laboratório, recomenda-se consultar um especialista e averiguar os Procedimentos Gerais de Projetos do Fundo de Construção da Universidade de São Paulo (Fundusp) para os envolvidos em campus Universitários ligados à USP[1] e ao setor correspondente em outras instituições públicas ou privadas. Cabe aos gestores da empresa o direcionamento do panejamento adequado, desde a concepção do projeto até o estabelecimento de todas as etapas, propondo a educação continuada, preocupado com a saúde como um único universo. Acredita-se que a integração do setor administrativo com as áreas técnicas específicas traz benefícios a todos os envolvidos, pois o alvo de todo o trabalho de prevenção está dirigido tanto para a segurança de núcleos menores quanto para maiores, como laboratórios, departamentos, unidades, universidades, municípios, estados e federações.

O trabalho laboratorial executado de forma adequada e bem planejada previne a exposição indevida a agentes considerados de risco à saúde e, certamente, evita acidentes. Esses procedimentos denominamos boas práticas de laboratório (BPLS).

As práticas de biossegurança baseiam-se na necessidade de proteção do operador, de seus auxiliares e da comunidade local, bem como do local de trabalho, dos instrumentos de manipulação e do meio ambiente, contra riscos que possam prejudicar a saúde[2]. A manipulação com biossegurança dos organismos considerados contaminantes é regida por leis federais, estaduais e municipais. Como exemplo, cita-se a manipulação de radioisótopos – organismos geneticamente modificados, agentes infecciosos de alta periculosidade como vírus da Aids, ebola, hepatite C e B, entre outros. Os órgãos internacionais também se preocupam com esses tipos de contaminação, de tal forma que se empenham em fornecer informações correlatas e ministrar treinamentos de forma contínua. Os agentes químicos associados com terrorismos, vícios e aqueles que podem afetar a segurança nacional também são controlados pelos órgãos federais e requerem licenças especiais para sua manipulação, seu armazenamento e transporte.

A identificação correta é uma forma importante de prevenir a manipulação inadequada de agentes infecciosos, substâncias químicas perigosas e organismos geneticamente modificados. Existem normas bem estabelecidas de rótulo, transporte, armazenamento para todas as substâncias químicas, medicamentos, agentes infecciosos e materiais biológicos, assim como para as fontes potenciais de contaminação[3]. A necessidade e o hábito de ler o rótulo de todo material de trabalho, assim como a constante utilização de equipamento de proteção individual e coletiva, adequado para cada procedimento, são as principais formas de prevenir acidentes e de se proteger.

O correto armazenamento dos solventes, reagentes e vidrarias, utilizando locais bem definidos e adequadamente identificados com simbologia preconizada, minimiza os riscos de acidentes de trabalho[4,5].

Sem dúvida, o controle de descarte de produtos considerados agressores do meio ambiente deve ser cuidadosamente monitorado, para preservar o meio ambiente em que se vive[6], assim como evitar o descarte inadequado de materiais passíveis de reciclagem, adotando a colheita seletiva destes, o que possibilita uma economia e a proteção ambiental para o bem-estar da população.

Para fins didáticos, serão abordados os riscos nos laboratórios de ensino, de pesquisa e de biotecnologia sob vários aspectos, a saber: físicos, biológicos, químicos, ergonômicos e de acidentes.

O laboratório de ensino, de pesquisa ou de biotecnologia é um local de constante aprendizado tanto para o professor como para os alunos. Estar em harmonia com o ambiente de trabalho é imprescindível. O objetivo deste capítulo é abordar as principais necessidades para uma boa interação entre o trabalho e as ferramentas de ensino, de forma harmoniosa, agradável e sem intercorrências, promovendo resultados necessários para poder contribuir com a formação acadêmico-científica e profissional.

Neste capítulo, serão tratados, de forma bem concisa, os principais riscos, que a seguir serão mais bem discutidos.

RISCOS FÍSICOS

Refere-se a riscos provocados por algum tipo de energia. Os riscos físicos podem ser enumerados dependendo dos equipamentos de manuseio do operador ou do ambiente em que se encontra no laboratório. Podemos citar alguns casos como: calor, frio, ruídos, vibrações, radiações não ionizantes e ionizantes e pressões anormais.

Equipamentos que geram calor ou chamas

Estufas, muflas, banhos de água, bico de gás, lâmpada infravermelha, manta aquecedora, agitadores magnéticos com aquecimento, termociclador, incubadora elétrica, forno de micro-ondas, esterilizador de alça ou

agulha de platina e autoclaves são os principais equipamentos geradores de calor. Sua instalação deve ser feita em local ventilado e longe de material inflamável, volátil e de equipamentos termossensíveis. Nos procedimentos gerais do Projeto do Fundusp[1], estão resumidamente observados os principais cuidados a serem tomados na instalação desses equipamentos especiais.

Os geradores de calor muito elevado, como a mufla, têm de ser cuidadosamente instalados em suportes termorresistentes ou em balcões com resistência térmica (jamais em balcão de madeira). As incubadoras não devem ser instaladas próximas de refrigeradores.

Ao se operar equipamentos geradores de calor, o operador deve se proteger com luvas adequadas e avental. Nesse caso, recomenda-se o uso de luvas térmicas ou, pelo menos, luvas de pano resistentes ou revestidas com material isolante ao calor. O manuseio de destiladores com substâncias voláteis (destiladores de solventes) ou perigosas deve ser feito dentro de capelas de segurança química, e, para substâncias voláteis, deve-se utilizar máscaras com filtros adequados. Cumpre lembrar que as capelas de segurança química precisam estar adequadamente instaladas com filtros de retenção para não poluir o ar atmosférico local. Esses equipamentos podem, quando inadequadamente operados, causar acidentes de proporções consideráveis, como queimaduras graves, explosões e até incêndios.

Um equipamento bastante comum no laboratório é o agitador magnético com manta de aquecimento. Por ser portátil, os acidentes de queimadura nas mãos são frequentes. Após a utilização, o manipulador procura automaticamente deslocar o equipamento para outro local com as mãos sem proteção, provocando, muitas vezes, queimaduras graves, que poderiam ser evitadas com o hábito de usar luvas de pano resistentes ao calor ou revestidas com material isolante.

Equipamentos de baixa temperatura

Determinados experimentos devem ser realizados dentro de câmaras frias. Quando o operador necessitar executar tais tarefas por um período prolongado, recomenda-se a utilização de proteção adequada ao frio. Aconselha-se o uso de um agasalho térmico com capuz.

Ao operar congeladores de temperatura ultrabaixa (-70°C), deve-se vestir aventais térmicos e máscaras, além de proteger as mãos com luvas térmicas. Aos portadores de cabelos longos, recomenda-se prendê-los, pois podem aderir em locais ultrafrios. Em nosso meio, em virtude do calor constante, aconselha-se evitar a abertura constante e prolongada desses congeladores, uma vez que ocorrerá queda demasiada da temperatura, havendo, para sua estabilização, gasto demasiado de energia elétrica. No caso do *congelador* com proteção para queda de energia, por meio de refrigeração com nitrogênio líquido cuja temperatura aproximada é de -160°C, deve-se tomar muito cuidado na reposição do conteúdo desses frascos, ou na manipulação dos frascos térmicos que armazenam o nitrogênio.

Frascos que contêm nitrogênio líquido e gelo seco, quando inadequadamente manipulados ou transportados, também provocam acidentes bastante graves, como as queimaduras. O manipulador, no primeiro caso, deve-se proteger com avental, óculos e luvas térmicas, além de sapatos de borracha de cano alto com isolamento térmico. O transporte desse material tem de ser realizado em frascos adequados com fechamento por válvula de escape de gases. No caso do gelo seco, deve-se trabalhar com luvas de couro forradas – iguais às de proteção térmica para o calor. Ao manusear gelo seco com acetona ou etanol, observar previamente a resistência do material no qual se encontra acondicionado, evitando acidentes. O isopor, por exemplo, é muito solúvel em acetona e clorofórmio; portanto, ao pretender congelar uma amostra utilizando gelo seco, nunca acondicioná-la em isopor para colocar acetona ou clorofórmio.

Material radioativo

Laboratórios que manipulam elementos radioativos devem ser construídos conforme recomendações (ver Procedimentos Gerais de Projetos do Fundusp[1], p.19).

O material radioativo tem de ser manipulado segundo as fontes de radiação. Nos laboratórios de pesquisa, é mais frequente a utilização de fontes não seladas, enquanto, nos locais de tratamento radioterápico, as fontes são seladas.

As fontes não seladas mais comuns são emissores de radiação beta e gama. Os emissores de radiação beta mais utilizados no laboratório de pesquisa e ensino são ^{32}P, ^{33}P, ^{35}S, ^{3}H, ^{14}C e ^{51}Cr, e os emissores beta e gama são ^{131}I e ^{125}I.

O principal cuidado a ser tomado, ao se manipular material radioativo, deve ser, inicialmente, procurar o responsável (ou solicitar ao seu superior hierárquico, na sua unidade de proteção radiológica). Para adquirir material radioativo, o fornecedor solicitará um número de licença. O manipulador de radioisótopos deve realizar cursos de treinamento em proteção radiológica. Verifique se seu laboratório ou sua unidade tem um programa de controle de exposição radiológica e solicite que seja incluído nele. Procure conhecer as normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN-NE-3. o1); Diretrizes Básicas de Radioproteção, de julho de 1988, Resolução CNEN n. 12/88 (http://www.senado.gov.br/legislacao).

Em caso de acidentes com contaminação radiológica, comunicar à Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA) e procurar um médico do trabalho para orientação adequada. Apesar de a maioria dos trabalhos de pesquisa utilizar quantidades bem baixas de material radioativo, deve ser considerado o efeito cumulativo da exposição a longo prazo.

Os equipamentos de raios X comumente utilizados em radiografias são equipamentos bastante usado em hospitais, clínicas e centros de diagnóstico. As precauções devem ser rigorosas em relação ao operador e ao tempo de exposição. Em razão da alta periculosidade que este trabalho apresenta, o tempo de exposição desses profissionais tem de ser o mais limitado possível. O técnico em raios X precisa sempre controlar sua exposição por meio de medidores que devem ser adquiridos em órgãos competentes. Além disso, o exame hematológico periódico deve ser um procedimento rotineiro para o controle da exposição ocupacional e bem-estar de tais profissionais.

Os cuidados detalhados estão abordados no Capítulo 6, "Biossegurança no uso de radioisótopos".

Pressões anormais

É fundamental a utilização de equipamento de proteção contra as pressurizações ou despressurizações. A falta das devidas precauções pode causar invalidez permanente, como a surdez, ou levar à morte por embolia. Em laboratórios regulares, esse tipo de ambiente é bem raro, cabendo mais especificamente para laboratórios de oceanografia, biologia marinha, entre outros. Portanto, esse tema não será abordado neste capítulo. Contudo, se houver necessidade, recomenda-se a consulta das normas Regulamentadoras do Ministério do Trabalho (Capítulo 10, "Legislação aplicada às atividades desenvolvidas em laboratórios de ensino e pesquisa"). Normas do Ministério do Trabalho regulamentadoras (http://www.mtb.gov.br).

Umidade

Em caso de trabalhar em locais muito úmidos, deve-se utilizar proteção contínua, em razão do grande risco que traz à saúde. Nesse caso, é preciso utilizar roupa impermeável, com proteção à umidade. O risco é a contaminação com bactérias e fungos que podem ter facilidade de sobreviver nesses ambientes. O tempo de trabalho em tais condições deve ser bastante limitado, com utilização de máscaras do tipo bico de pato, utilizadas para manipular microrganismos transmissíveis por via aérea, como os fungos. Na dúvida, para as devidas precauções, consultar as normas com seu representante da CIPA.

Ruídos e vibrações

Em local onde são instalados muitos equipamentos com emissão de ruídos, os operadores, ou as pessoas que trabalham no mesmo ambiente, devem fazer uso de protetores auriculares. Os equipamentos que podem emitir ruídos de forma anormal são trituradores, centrífugas, ultracentrífugas, ultrassom, autoclave, congelador ultrafrio, bombas de autovácuo, determinados condicionadores de ar, capela de fluxo laminar ou capela química, entre outros. Legislações específicas regulamentam e determinam os limites permissíveis em unidade de decibéis. A norma NBR n. 10152/ABNT estabelece um limite de 60 decibéis para uma condição adequada de trabalho. Estão também estabelecidos os limites de ruído e o tempo diário de tolerância. Norma Regulamentadora n. 15, Anexos 1 e 2 da Portaria n. 3.214 de 8.7.1978 (http://www.mtb.gov.br).

Radiação não ionizante

Refere-se às radiações a que somos submetidos nos vários ambientes de trabalho, como luz natural, infravermelho, ultravioleta (UV), entre outras. Essa abordagem inclui, além dos riscos, as condições mínimas de trabalho. O ambiente de trabalho deve estar com intensidade de luz apropriada para manter o conforto visual. A adequação da iluminação deve ser realizada por profissionais especializados. Quanto a esse aspecto, podemos ainda considerar as radiações que podem causar algum tipo de dano à saúde, como queimaduras, lesões oculares distintas, entre outras.

Radiação ultravioleta

Esse tipo de radiação é extremamente danoso para a retina dos olhos. O manuseio de transiluminadores com radiação UV deve ser prevenida por meio da utilização obrigatória de barreiras faciais e óculos de proteção que retêm essa radiação. É muito comum o uso apenas dos óculos de proteção, sem a máscara, na operação de transiluminadores de UV, no entanto, deve-se tomar cuidado, pois a exposição a esse tipo de radiação por tempo prolongado e de forma cumulativa pode causar queimadura ou câncer de pele.

Os biologistas moleculares, ao manipularem fragmentos para clonagem, removem da agarose os fragmentos separados por eletroforese, sob luz UV. Nesse caso, recomenda-se a utilização de protetor da face, em vez de apenas óculos de proteção para os olhos. A exposição diária e frequente por um tempo um pouco mais prolongado sob radiação UV provoca queimadura de pele e, se for constante, poderá causar câncer de pele.

Os dentistas têm utilizado raios ultravioleta para reduzir o tempo de polimerização de alguns tipos de resinas utilizadas em restaurações odontológicas. O uso de óculos de proteção tanto para o operador como para o paciente é fundamental, entretanto não é comum a observação desse procedimento.

Radiação infravermelha

Apesar de ser utilizada como meio terapêutico, a exposição excessiva a essa radiação provoca desidratação e queimadura. Os manipuladores de solventes que secam seus preparados com utilização desse tipo de radiação/luz devem proteger-se com barreira facial contra luz infravermelha.

Raios *laser*

Esse tipo de raio está sendo cada vez mais utilizado na área médica para procedimentos cirúrgicos e terapêuticos e em pesquisas para equipamentos de medições mais complexas. O uso de proteção é fundamental; apesar de os feixes de raios laser serem bem direcionados, os acidentes podem ocorrer e causar danos irreparáveis se não forem prevenidos adequadamente.

Ondas de rádio

Profissionais que operam equipamento que gera ondas de rádio devem estar atentos aos danos auditivos e oculares. Exames periódicos devem ser considerados preventivos para evitar uma eventual suscetibilidade individual e, consequentemente, uma lesão mais grave.

Campos elétricos

Profissionais que operam com frequência em locais de altos campos magnéticos estão submetidos constantemente a riscos muito elevados, tanto de queimaduras como de outros danos ainda desconhecidos. Não há estudos bem definidos quanto aos danos causados pelos campos magnéticos de alta tensão que passam pelas residências, mas um acompanhamento periódico seria recomendado a essas pessoas.

RISCOS BIOLÓGICOS NO AMBIENTE DE TRABALHO LABORATORIAL

Os materiais biológicos abrangem amostras provenientes de seres vivos como plantas, animais, bactérias, leveduras, fungos, parasitas (protozoários e metazoários), amostras biológicas provenientes de animais e de seres humanos (sangue, urina, escarro, secreções, derrames cavitários, peças cirúrgicas, biópsias, entre outras). Incluem-se também os organismos geneticamente modificados, nos quais os cuidados são mais relevantes por estarem albergando genes com características diferenciadas, que serão abordados no Capítulo 7.

Riscos e biossegurança na utilização de tecnologia de DNA recombinante

As pesquisas mais contemporâneas definitivamente aderiram rapidez, maior produtividade, multidisciplinaridade, autossustentabilidade, menor risco aos pesquisadores e preocupação com a proteção ao meio ambiente. O fundamento da aplicação das recombinações de DNA contempla a maioria das exigências seguidas pelas pesquisas atuais.

A combinação do material genético de diferentes fontes, que cria organismos geneticamente modificados (OGM) que, eventualmente, nunca existiram até então, tem sido um tema de preocupação, sobretudo pela possibilidade de serem disseminados no meio ambiente e, consequentemente, gerarem riscos eventuais na natureza. Os biologistas moleculares preocupados com os riscos se reuniram para discutir esse tema em 1975[7].

Passadas mais de quatro décadas de pesquisas e discussões constantes, pode-se, atualmente, observar que a tecnologia de DNA recombinante ou engenharia genética pode ser conduzida de forma segura, desde que os manipuladores sejam apropriadamente treinados e as condições de instalações físicas estejam adequadamente preparadas e controladas[8].

A primeira utilização dessa técnica foi com a finalidade de produzir uma proteína recombinante em abundância utilizando uma bactéria, que recebeu um gene estranho ao seu genoma, com a finalidade de avaliar sua atividade biológica. Com a evolução metodológica, teve aplicabilidade ampliada nos diversos segmentos da ciência, incluindo, no sequenciamento dos genomas, eucariotos e procariotos. O avanço foi vertical em toda a área da ciência, em virtude dessa tecnologia, e, sem dúvida, foram criados processos biosseguros para manipulação gênica, dando segurança e tranquilidade aos pesquisadores que executam os estudos e, consequentemente, à sociedade como um todo pela geração de mais conhecimentos. Os impactos no conhecimento da biologia, da medicina e das ciências farmacêuticas foram tão significativos que transcenderam os possíveis efeitos indesejáveis, observados pelos benefícios gerados para a própria saúde humana e a economia do país. Cumpre ressaltar que em nenhum momento houve a dissociação entre segurança do pesquisador e da população com a preservação ambiental, cujo fato pode ser comprovado de forma bem definida por meio da criação dos ministérios de ciência e tecnologia, saúde, ambiente e legislação específicos. Os benefícios podem ser observados

em toda a ciência biológica e na saúde, além de induzir melhorias nas ciências exatas e tecnológicas. Uma grande abertura na produção de medicamentos recombinantes, terapia gênica e celular abre dimensões incalculáveis em termos de benefícios humanos e também na alta sustentabilidade. Modelos de animais geneticamente modificados, como a transgenia (expressando um gene de forma aumentada) e a deleção de genes (*knock out*), possibilitaram mimetizar a fisiopatologia de várias doenças, que até então não eram conhecidas. Outros potenciais em uso hoje são as plantas transgênicas, que resistem às pragas, possibilitando cultivos de alimentos e outros insumos para melhoria da saúde populacional. Somado a alternativa socioeconômica de um país de extensão continental e seu potencial recurso de um celeiro mundial no fornecimento de alimentos.

O desenvolvimento de procedimentos de segurança foi realizado paralelamente. Novos sistemas de gerenciamento, cursos de treinamentos específicos, literatura especializada e, sobretudo, o desenvolvimento de equipamentos de segurança, tanto individual como coletivamente, tiveram salto qualitativo e quantitativo na qualidade e aplicabilidade. Na área de recursos humanos, criou-se legislação específica para gerenciamento e educação continuada dos cientistas. Portanto, qualquer temor pode ser minimizado pelos resultados de melhoria da qualidade de trabalho, maior conforto aos operadores, maior segurança ao meio ambiente, equipamentos mais eficazes na minimização de contaminação ambiental e maior controle de qualidade nos insumos. A disponibilização das tecnologias derivadas desses processos ocasionou um crescimento autossustentável.

Biossegurança na manipulação de OGM

Sistemas de expressão biológica

Os sistemas mais comuns de expressão biológica incluem os vetores plasmidiais e virais e as células hospedeiras procariotas e eucariotas.

Os sistemas mais comuns e de baixa complexidade em termos de segurança biológica sempre combinam um vetor plasmidial muito bem estabelecido, cuja célula hospedeira é uma bactéria muito bem caracterizada como a *Escherichia coli*, K12, DH5α, entre outras que são comercialmente disponíveis. Esses sistemas podem ser facilmente conduzidos em laboratórios de segurança biológica nível 1, ou seja, um local sem muitos equipamentos onerosos, com uso de proteção individual bem comuns nos laboratórios de ensino e pesquisa (ver Capítulo 3, "Equipamentos de proteção individual e coletiva").

Os sistemas com vetores virais que são comumente utilizados na transferência de genes para outras células nos sistemas eucariotos, como hospedeiras, podem exigir laboratórios mais restritivos dependendo do tipo de vetor utilizado, mesmo que potencialmente não infectante[8].

Esses vetores virais, como o adenovírus, podem ser utilizados para transfectar células mamíferas. São deficientes de certos genes replicativos e, geralmente, expandidos em linhagens celulares que complementam suas deficiências.

A contenção, manipulação desse material no laboratório, deve ser realizada com controle rigoroso, pois pode estar contaminado com vírus competentes replicativos, gerados por eventos de recombinação espontânea raros nas linhagens de células de expansão, ou derivar de uma purificação insuficiente. Esse material deve ser manipulado em laboratório de segurança biológica, assim como o adenovírus do qual foi derivado[9].

Os critérios de escolha devem ser bem discutidos e estabelecidos antes da definição do sistema. Para tal, recomenda-se as seguintes considerações de segurança aos manipuladores e ao ambiente onde serão executados tais estudos:

- Verificar se o sistema de expressão deriva de organismos patogênicos, pois pode ocorrer a possibilidade de aumentar a virulência do OGM.
- A sequência do DNA a ser inserido não deve ser muito bem caracterizada, por exemplo, construção de biblioteca de um microrganismo patogênico.
- Produtos gênicos recombinantes com potencial atividade farmacológica, produtos gênicos que codificam toxinas, citocinas, hormônios, reguladores de expressão gênica, fatores de virulência e amplificadores, sequências de oncogenes e de resistência a antibióticos e alérgenos.

Animais transgênicos (carreando genes estranhos ao seu genoma) e *knock out* (genes deletados ou bloqueados)

A contenção, manipulação e descarte de animais geneticamente modificados devem seguir o rigor correspondente aos cuidados exigidos dos genes inseridos (para os transgênicos). Por outro lado, os animais *knock out* não têm, geralmente, risco biológico na sua manipulação, exceto se a mistura que pode ocorrer contaminar os animais selvagens em caso de possível fuga de sua área de contenção, que deve ser rigorosamente controlada.

Os animais transgênicos que incluem os que expressam receptores para viroses normalmente não infectam aquelas espécies. Se tais animais escapam do laboratório de contenção e transmitem a transgene para os animais selvagens, um animal reservatório para aquele vírus em particular pode teoricamente ser gerado. Essa possibilidade tem sido discutida e todo o cuidado tem sido

recomendado para não causar reaparecimento de viroses teoricamente erradicadas.

Plantas transgênicas

Plantas transgênicas que expressam genes que conferem tolerância a herbicidas ou resistência a insetos são consideradas temas de controvérsias em muitos países. Na verdade, tem se discutido a respeito da segurança alimentar com relação a essas plantas e as consequências a longo prazo de seu cultivo.

Plantas transgênicas que expressam genes de origem animal ou humana são utilizadas para desenvolver produtos medicinais e nutrientes. O risco de acesso deve ser determinado pelo nível de segurança para a produção dessas plantas.

É importante considerar que o processo de biossegurança com OGM é um processo dinâmico, que muda com o desenvolvimento tecnológico e o progresso científico. Não podemos deixar de ter os benefícios oferecidos pela tecnologia de DNA recombinantes e retroceder o avanço da humanidade se apegando a conceitos puramente ideológicos que não permitem discussão científica[10].

RISCOS QUÍMICOS

A classificação das substâncias químicas, dos gases, líquidos ou sólidos também deve ser conhecida pelos seus manipuladores. Nesse aspecto, tem-se solventes combustíveis, explosivos, irritantes, voláteis, cáusticos, corrosivos e tóxicos[5]. Eles devem ser manipulados de forma adequada em locais que permitam ao operador a segurança pessoal e do meio ambiente. Nesse caso, cuidados também têm de ser tomados no descarte dessas substâncias.

Esse grupo de risco é muito importante, pois os acidentes de laboratórios com substâncias químicas são os mais comuns e bastante perigosos.

No momento do manuseio e da preparação das soluções é que se deve tomar as precauções e cuidados apropriados para evitar riscos. A obediência às normas de segurança é fundamental para evitar acidentes de trabalho.

De forma didática, podemos classificar os riscos químicos em grau de periculosidade, apresentados a seguir.

Contaminantes do ar

Devem-se considerar como contaminantes do ar: poeiras; fumaça de diferentes origens, incluindo as de cigarro; aerossóis; neblinas; gases asfixiantes e irritantes; e vapores.

Como atividades geradoras de aerossóis, podemos citar a manipulação de centrífugas, ultracentrífugas, incubadoras orbitais, liofilizadores, evaporadores, homogeneizadores, misturadores, moedores de substâncias sólidas, líquidos e gases comprimidos e perigosos.

Esses equipamentos, quando utilizados com substâncias que são contaminantes, devem ser hermeticamente fechados. Por exemplo, a centrífuga que se utiliza para amostra contendo bactérias deve ter tampas no rotor e os tubos utilizados devem ter tampas rosqueadas.

Substâncias tóxicas e altamente tóxicas

Deve-se evitar o contato de substâncias tóxicas que podem causar graves danos à saúde com o corpo humano, principalmente aquelas que podem trazer consequências fatais. Deve-se tomar especial cuidado com as substâncias que possuem atividade cancerígena e levam ao risco de alterações genéticas e de ação teratogênica. O brometo de etídio é um exemplo de substância mutagênica muito utilizada nos laboratórios de pesquisa com ácidos nucleicos. Sua manipulação deve ser feita com luva e seu descarte deve ser realizado apenas após inativação.

Substâncias explosivas

Evitar choques, produção de faíscas, fogo e ação de calor. Muitos produtos químicos são explosivos, como as nitroglicerinas. Outro cuidado é o conhecimento de amostras que produzem substâncias explosivas. Esses compostos geralmente são controlados pelo Ministério do Exército e requerem autorização especial para a obtenção, como, por exemplo, o ácido perclórico e o ácido nítrico.

Substâncias irritantes e nocivas

Evitar o contato das substâncias químicas irritantes, como hidróxido de amônia, ácido nítrico, acrilamida, com o corpo humano e com a inalação de seus vapores. Tais agentes químicos são possíveis causadores de danos à saúde em caso de seu emprego inadequado. Existem certas substâncias, como a acrilamida, das quais não é possível descartar totalmente uma ação cancerígena, alteração genética ou teratogênica. O manuseio dessa substância requer utilização de proteção do sistema respiratório, contato com as mãos e peles por meio da utilização de luvas e manipulação em uma cabine de segurança química.

Substâncias oxidantes

Evitar qualquer contato com substâncias combustíveis (perigo de inflamação). Os incêndios podem ser

favorecidos e sua extinção pode ser dificultada. Ex.: peróxidos e outros.

Substâncias corrosivas

Evitar o contato com os olhos, a pele e a roupa mediante medidas protetoras especiais. Não inalar vapores. Utilizar luvas de proteção com avental de manga comprida, de material impermeável e resistente a esses compostos. Exemplos: ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, entre outros. É importante observar que esses produtos devem ser manipulados com equipamentos específicos.

Líquidos voláteis

Manipular os líquidos voláteis, como ácido clorídrico e nítrico, com muito cuidado, evitando-se sua inalação. Manipular tais produtos sempre em capela de ar forçado ou exaustão (capela química) e manusear com proteção adequada, usando máscara de proteção do sistema respiratório e luvas especiais.

Substâncias inflamáveis

Manipular as substâncias inflamáveis longe de chamas ou emissores de calor e centelhas. Quando os produtos forem voláteis, operar com proteção adequada e em capela de ar forçado ou exaustão (capela química). Todas essas substâncias devem ser adequadamente identificadas. Em geral, os fabricantes apresentam, nos rótulos, uma instrução sobre manuseio correto, com identificação pertinente. O éter é um bom exemplo, não devendo ser acondicionado em geladeira comum, pois pode provocar uma explosão, em virtude da presença da lâmpada e do interruptor, que podem gerar centelha no momento do fechamento ou abertura.

Metanol, clorofórmio, acetona, entre outros, são substâncias inflamáveis e extremamente voláteis, o que torna necessário manusear em capelas com ventilação com lâmpadas lacradas antiexplosão, com interruptor externo à capela. O acondicionamento deve ser feito em frascos herméticos e em locais ventilados.

Deve-se prevenir nos seguintes aspectos:

- Na fricção: fósforo branco, vermelho e amarelo, persulfato de fósforo.
- Na exposição ao ar: boro, carvão vegetal, ferro pirofosfórico, fósforo branco, vermelho e amarelo, hidratos, sódio e potássio metálico, nitrito de cálcio, pó de zinco.
- Na absorção de umidade: cálcio, carbonato de alumínio, hidratos, magnésio finamente dividido, óxido de cálcio, peróxido de bário, pó de alumínio, pó de zinco, potássio, selênio, sódio, sulfeto de ferro.
- Na absorção de pequena quantidade de calor: carvão vegetal, dinitrobenzol, nitrato de celulose, piroxilina, pó de zircônio

Sólidos

Substâncias corrosivas

Evitar o contato desses compostos com o corpo humano, devendo sempre se prevenir com relação ao efeito teratogênico e cancerígeno. Ao manusear esses compostos, proteger-se com luvas, máscaras e óculos. A escolha desses materiais de proteção individual é fundamental, pois eles podem sofrer fácil deterioração durante seu uso ou manipulação, perdendo sua função protetora. O hidróxido de sódio e potássio é um exemplo de sólido corrosivo. Deve-se utilizar espátula de polipropileno ou plástico para manipulá-lo e a solução desse composto deve ser acondicionada também em plástico ou polipropileno.

Substâncias cancerígenas

Devem ser tomados os mesmos cuidados citados para os líquidos cancerígenos.

Utilizar proteção adequada para sua manipulação (ver Capítulo 9, “Biossegurança e câncer”).

RISCOS ERGONÔMICOS

Esses aspectos são pouco considerados quando se projetam os laboratórios de ensino, pesquisa e biotecnologia. Os Procedimentos Gerais de Projeto orientam de forma geral[1] (p. 5-8).

Em geral, devem-se preocupar com distâncias em relação à altura dos balcões, cadeiras, prateleiras, gaveteiros, capelas, circulação e obstrução de áreas de trabalho. Para os usuários de computadores e aqueles que atuam sentados, é importante se preocupar com a altura dos teclados desses equipamentos e da posição de monitores e vídeos para evitar distensões de músculos e lesões em tendões, principalmente das mãos. É bastante comum trabalhos de movimentos repetitivos em alguns setores, como a secretaria, que utilizam teclados para digitação ou, em laboratórios, pipetas automáticas. Tais operadores são eminentes candidatos a sofrer de tendinites, que, muitas vezes, necessitam ser corrigidas por intervenção cirúrgica. Esses movimentos devem ser evitados, utilizando-se estudos ergonômicos por especialistas, a fim de impedir lesões decorrentes, e o trabalho deve ser diversificado, evitando um pro-

longado trabalho repetitivo. Essa responsabilidade cabe aos responsáveis pelo gerenciamento do trabalho desses funcionários.

O termo criado para esse tipo de riscos ergonômicos foi LER (*vide* Resoluções da Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo, ns. 180 e 197, de 1992), ou seja, lesões causadas por esforços repetitivos, que, atualmente, se denomina DORT, doenças osteomusculares relacionadas com o trabalho[11]. Esse termo inclui as manifestações ergonômicas e psicossociais (http://www.mtb.gov.br).

As manifestações comuns das lesões podem ser facilmente localizadas por calor localizado, choques, dores, dormências, formigamentos, fisgadas, inchaços, pele avermelhada e perda de força muscular. As bursites e a síndrome de canal cubital podem ser provocadas por apoio de cotovelo em balcões e mesas; a síndrome do desfiladeiro torácico pode ser causada por trabalhos manuais curvados como no ato de consertar carros, lavar vidrarias em pias baixas, apoiar o telefone sobre o ombro e o ouvido, pintar paredes e rodapés, trabalhar em laboratório sentado em bancos altos com balcões baixos, entre outros. A síndrome do túnel do carpo e a tenossinovite de extensores dos dedos podem ser ocasionadas pelo trabalho contínuo em digitar, fazer montagens em indústrias, empacotar, operar mouse de computador, entre outras atividades. A tendinite da porção longa do bíceps e a tendinite do supraespinhal podem ser manifestações comuns em carregadores de peso (pesos sobre os ombros) e jogadores de vôlei.

Para maiores informações sobre esses casos, recomenda-se procurar mais orientação junto à CIPA, no Serviço Especializado em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (SESMT) da sua instituição ou na literatura[12].

RISCOS DE ACIDENTES

Equipamentos de vidro

Quando se trabalha com equipamentos de vidro, deve-se observar a resistência mecânica (espessura do vidro), a resistência química e o calor. Deve-se evitar o armazenamento de álcali em vidros, pois provocam erosão. Utilizar apenas vidros de borossilicato, resistentes ao calor, para aquecimentos ou reações que liberam calor. Nunca levar a chama direta, um frasco de vidro, recomendando-se manta elétrica ou uso de tela de amianto quando utilizar bico de Bunsen. Ao aquecer, nunca fechar hermeticamente o frasco de vidro. Vidros que contêm substâncias inflamáveis têm de ser aquecidos em banho de água, jamais em mantas ou em chama. Utilizar sempre luvas com isolamento térmico adequado.

Ao empregar material de vidro em sistema de autovácuo, não usar vidraria de parede fina; aconselha-se o frasco de Kitazato. Tomar precauções ao usar manômetro para controle do vácuo e proteger o frasco em tela de arame ou caixa fechada para evitar estilhaço em caso de implosão, principalmente na utilização de frasco de grande dimensão.

A utilização de rolhas em frascos de vidro devem seguir as seguintes recomendações:

a. Avaliar com cuidado o tamanho da rolha com o orifício de vidro a ser tampado.
b. Utilizar lubrificante, como silicone, vaselina, ou mesmo água, caso não permita o uso de tais lubrificantes.
c. Proteger as mãos com luvas que não permitam perfuração.
d. Proteger os olhos com óculos de proteção.
e. Nunca utilizar parte do corpo para servir de apoio para introdução da rolha.
f. Jamais utilizar frasco de vidro com fratura e trincas nas bordas onde a rolha será introduzida.
g. Avaliar a fragilidade do material com relação ao uso repetido, que torna o vidro mais frágil.

A lavagem de material como a vidraria é uma tarefa que propicia acidentes, em virtude da utilização de detergente. Portanto, sempre deve-se usar material amortecedor nos locais de lavagem e colocar, na superfície da pia, material de borracha/espuma e também protetores de torneira com silicone. As luvas devem ser de material antiderrapante. Evitar o uso de solução sulfocrômica, por ser altamente perigosa e causar contaminação no meio ambiente, no comércio existem disponíveis detergentes adequados (Extran® ácido, neutro ou alcalino) para remoção de resíduos químicos ou biológicos.

O descarte de material de vidro deve ser realizado de forma adequada; quando quebrar, descartar como material perfurante em caixas de papelão/plástico resistentes.

Os dessecadores, as pipetas de vidros e os frascos de grande volume são os causadores mais comuns de acidentes. Os cuidados devem ser maiores nesses casos, pois são instrumentos bastante utilizados na prática laboratorial.

Equipamentos e instrumentos perfurocortantes

É preciso proteger as mãos com luvas adequadas e tomar os devidos cuidados na manipulação de equipamentos e instrumentos perfucortantes, nunca voltando o instrumento contra o próprio corpo. Apoiá-los adequadamente em superfície firme antes de utilizá-los, ou prendê-los em equipamentos adequados para cada tipo

de uso. Esses equipamentos incluem furadores de rolha, lancetas, agulhas, tesouras, entre outros.

Profissionais que atuam em colheita e obtenção de amostras de sangue e líquidos biológicos em laboratórios clínicos, hospitais, postos de saúde e prontos-socorros que utilizam seringas e agulhas por sistemas de colheitas a vácuo devem seguir as normas recomendadas pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos, em relação aos descartes de material perfurocortantes, além de seguir as normas vigentes da Secretaria de Vigilância Sanitária (http://www.abnt.org.br).

Colheita, manipulação de amostra de sangue e outros fluidos biológicos no laboratório de pesquisa e clínico

A biossegurança é um importante aspecto a ser considerado ao entrar em contato com o paciente ou sua amostra biológica. Os cuidados universais, segundo o CDC dos Estados Unidos, devem ser mandatórios para segurança ocupacional e administração da saúde[3]. O propósito é proteger a saúde dos trabalhadores que militam na área desse segmento – evitando que eles contraiam doenças de pacientes –, no local de trabalho ou de materiais biológicos provenientes deles.

As principais recomendações são:

a. Vestir gorro, avental, luvas, proteção para os olhos, máscara facial e outros acessórios ao manipular fluidos biológicos.
b. Quando o trabalhador da área de saúde estiver com lesão de pele, utilizar luvas e aventais que protejam o sítio lesado, além do curativo aplicado nesse local quando houver necessidade da manipulação direta dos pacientes.
c. Os equipamentos de proteção para ressuscitação via boca a boca, em casos de emergência, devem estar localizados em locais estratégicos e de fácil acesso. O dispositivo da boca tem de ser individualizado para cada pessoa, sendo preferidos os frascos de ressuscitação. A saliva é considerada material contagioso.
d. Descartar os materiais pontiagudos e perfurocortantes em frascos rígidos adequados.
e. Não remover, dobrar ou reencapar agulhas colocadas no suporte ou seringas.
f. Remover imediatamente luvas ou qualquer dispositivo de segurança que esteja inadequado (furado, rasgado, quebrado ou trincado).
g. Todo material de descarte proveniente de pacientes deve ser colocado em lixo rotulado como perigoso.
h. Todas as amostras biológicas têm de ser transportadas em embalagens à prova de vazamento.
i. Comer, beber, usar cosméticos ou manipular lentes de contato é terminantemente proibido em área de cuidados ou contato com pacientes.
j. Supor que todos os pacientes são portadores de vírus da hepatite B (HBV), da hepatite C (HCV) e da imunodeficiência humana (HIV).
k. Se o trabalhador da área de saúde sofrer um acidente com amostras de sangue de paciente ou qualquer fluido biológico proveniente de pacientes, como furar o dedo com agulha com sangue, é obrigatório realizar testes de HIV, HCV e HBV no paciente e no acidentado.

Equipamentos que utilizam gases comprimidos

Espectrofotômetros de absorção atômica e fotometria de emissão, cromatógrafos líquidos e a gás, espectrômetros de massa, ressonância magnética nuclear (RMN), aparelhos de perfusão e de secagem, entre outros equipamentos que utilizam gases comprimidos, devem ser adequada e cuidadosamente manipulados. O manuseio e a instalação têm de seguir as normas e os cuidados de acordo com as recomendações vigentes para evitar acidentes. Os cilindros que contêm os gases devem ter instruções específicas, como explicado a seguir.

Cuidados com cilindros de gases comprimidos inertes e combustível

O manuseio e a instalação de cada tipo de gás comprimido devem seguir as instruções recomendadas de forma específica (ver Procedimentos Gerais de Projeto do Fundusp[1], p. 16).

- De maneira geral, os cilindros de gases devem ser acondicionados fora do laboratório, em locais especialmente projetados, protegidos do calor e da umidade, firmemente presos, longe de condicionadores de ar, com ventilação adequada para evitar acúmulo destes, em caso de vazamento. Se necessário, instalar ventilação forçada, com acionamento isento de faísca ou aquecimento. É obrigatório o uso de identificação e de reguladores de pressão externa e interna. Esses reguladores são específicos para cada tipo de gás comprimido. Os revendedores desses gases orientam as especificações de forma adequada.
- Por ocasião do recebimento dos cilindros de gases comprimidos os seguintes cuidados devem ser tomados: teste de vazamento, teste de identificação dos cilindros (esses devem estar identificados adequadamente (ver Quadro 1), local de armazenamento, identificação com data de recebimento,

presença de proteção do registro (capacete do cilindro) e lacre. Nunca remova lacres, identificação ou qualquer etiqueta anexa no cilindro.
- O transporte e a movimentação do cilindro têm de ser realizados por pessoal treinado, pois a queda de um cilindro pode acarretar danos incalculáveis, Devem-se evitar choques mecânicos de cilindros e entre estes.
- Ao utilizar o cilindro, solicite orientação de uso e regulagem das válvulas para a pressão adequada. Verifique bem as identificações e se o gás que está sendo instalado é o desejado. Após a instalação, certifique-se de que não há vazamento. Não permita que se fume em locais onde se acondiciona o cilindro. Utilize sinalização bem visível nesses locais.
- Nunca use lubrificantes ou qualquer agente químico na válvula dos cilindros; jamais transfira gases entre cilindros nem movimente os cilindros sem a adequada proteção pessoal, como o capacete colocado nos cilindros, luvas e carrinho de transporte. Nunca aperte demais as válvulas ou conexões; em caso de pequeno vazamento, desatarraxar e vedar utilizando teflon, após limpeza adequada. Lembre-se de sempre fechar a válvula do cilindro quando não estiver em uso. Utilize as ferramentas adequadas para manipulação de válvulas e conexões.
- O vazamento deve ser verificado por meio de espuma de sabão neutro ou com produtos fornecidos pelas empresas.

Os gases inflamáveis e tóxicos precisam ser cuidadosamente identificados (Quadro 1).

Quadro 1. Cores de identificação de cilindros de alguns gases

Cilindros de gases	Cor
Oxigênio	Preta ou verde
Nitrogênio	Cinza
Acetileno	Bordô
Acetileno para absorção atômica	Bordô com faixa amarela
Ar comprimido	Amarela
Gás carbônico	Alumínio

Grupo de risco dos gases

Grupo I: não inflamáveis não corrosivos e de baixa toxidez

Ar comprimido, argônio, dióxido de carbono, hélio, neônio, nitrogênio e oxigênio.

Grupo II: inflamáveis, não corrosivos e de baixa toxidez

Acetileno, butano, cloreto de metila, hidrogênio, metano, propano, gás natural e etano.

Grupo III: inflamáveis corrosivos e tóxicos

Sulfeto de hidrogênio, monóxido de carbono, brometo de metila, dimetilamina, óxido de etileno e cloreto de metila.

Grupo IV: tóxicos e/ou corrosivos e não inflamáveis

Amônia, cloro, flúor, tetracloreto de boro, brometo de hidrogênio, cloreto de hidrogênio, dióxido de enxofre e fluoreto de hidrogênio.

Grupo V: espontaneamente inflamável

Silano.

Grupo VI: muito venenosos

Arsina, cloreto de nitrosila, fosfina, óxido nítrico, cianogênio, dióxido de nitrogênio, fosfogênio e seleneto de hidrogênio.

Os riscos físicos também podem estar relacionados com manipulação de emissores de radiação em ambientes úmidos, com ruído e pressões diferenciadas.

EQUIPAMENTOS DE ENGRENAGEM E DE SISTEMA DE TRITURAÇÃO

Esses equipamentos requerem cuidados especiais. O manipulador nunca deve estar com aventais desabotoados e de mangas compridas soltas. Se os cabelos forem longos, têm de estar sempre presos. Utilizar equipamento de proteção individual de forma adequada e certificar-se dos cuidados na manipulação desses equipamentos, seguindo com rigor os manuais de instrução para cada tipo de equipamento[13]. O manuseio inadequado é descrito frequentemente com acidentes graves, causando mutilações com invalidez parcial ou total.

Esses equipamentos também emitem ruídos que devem ser monitorados. O operador não deve estar em contínuo trabalho (8 horas/dia) no ambiente com ruído acima de 60 decibéis (http://www.abnt.org.br).

EQUIPAMENTOS DE EMISSÃO DE ULTRASSOM

A utilização de ultrassom para limpar vidraria ou desgaseificar solventes utilizados em cromatografia líquida é uma prática bastante comum nos laboratórios de ensino e pesquisa. Na manipulação desses equipamentos a proteção auditiva é fundamental, devendo o equipamento ser instalado com abafador de ruído. Em geral, este é constituído de uma caixa com dupla parede, devidamente forrada com isolante, como lã de vidro, isopor ou espuma, com uma porta de vidro à prova de

som, que precisa ser vedada. Ao manipular esses equipamentos, deve-se evitar abrir o compartimento emissor de ultrassom, se ligado. Nunca introduzir as mãos no compartimento em que o ultrassom é emitido, pois provoca danos graves. Leia atentamente as instruções de uso do equipamento antes de manipulá-lo.

Os equipamentos de micro-ondas são bastante utilizados em laboratórios para esterilizar meios de cultura ou para fundir gel de ágar ou de agarose para confeccionar suporte de eletroforese. Um cuidado muito grande deve ser tomado, pois, nesses casos, o operador, a fim de evitar evaporação, fecha hermeticamente o frasco que contém o tampão e o ágar. Nesse caso, recomenda-se ligar o equipamento com tempo de funcionamento curto e repetido em vez de um tempo maior e constante, evitando a fervura da água em único tempo, o que causará explosão por aumento brusco da pressão interna do frasco. Para evitar a explosão, ligar o equipamento de micro-ondas em tempos de 20 a 30 segundos por várias vezes, até obter o resultado esperado, mas de forma segura.

As vantagens desse procedimento é que, além de poder homogeneizar o gel nos intervalos da repetição de ligar, não perderá por evaporação a água ou o tampão colocado na mistura.

No caso de preparar o gel de agarose para separação de fragmentos de DNA em eletroforese submersa, evitar a colocação de brometo de etídio no suporte de agarose por ser este extremamente mutagênico, evitando, assim, contaminar o tampão de corrida com essa substância cancerígena. O ideal é corar o gel após a corrida eletroforética. O gel corado, após análise, deve seguir o procedimento de descarte após ser neutralizado de forma adequada, como descrito no Capítulo 5, "Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos".

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fundo de Construção da Universidade de São Paulo (Fundusp). Procedimentos Gerais de Projetos de Laboratórios. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1991.
2. Kimman TG, Smit E, Klein MR. Evidence-based biosafety: a review of the principles and effectiveness of microbiological containment measures. Clin Microbiol Reviews. 2008;21(3):403-25.
3. Fleming D, Richaardson JH, Tullis JJ, Vesley D. Laboratory safety: principles and practices. 2. ed. Washington: ASM Press; 1995.
4. Teixeira P, Valle S. Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz;1998.
5. Carvalho PR. Boas práticas químicas em biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência; 1999.
6. Torreira RP. Manual de segurança industrial. Fortaleza: Margus Publicações; 1999.
7. Berg P, et al. Asilomar conference on recombinant DNA molecules. Science. 1975;188:991-4.
8. European Council. Council Directive 98/81/EC of 26 october 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified microorganisms. Official Journal. 1998;L330:13-31.
9. O'Malley BW Jr, et al. Limitations of adenovirus-mediated interleukin-2 gene therapy for oral cancer. Laryngoscope. 1999;109:389-95.
10. World Health Organization (WHO). Maintenance and distribution of transgenic mice susceptible to human viruses: memorandum from a WHO meeting. Bull World Health Org. 1993;71:497-502.
11. Cardela B. Segurança no trabalho e prevenção de acidentes – uma abordagem holística. São Paulo: Atlas; 1999.
12. Campos A. Cipa – Comissão Interna de Prevenção a Acidentes: uma nova abordagem. 2. ed. São Paulo: Senac; 2000.
13. Hambleton P, Melling J, Salusbury TT. Biosafety in industrial biotechnology. Glasgow: Blackie Academic & Professional; 1994.

capítulo 2

Biossegurança em laboratórios

Rosario Dominguez Crespo Hirata

INTRODUÇÃO

A segurança nas atividades laboratoriais, a preservação da saúde e a proteção do meio ambiente são essenciais na prática moderna do laboratório destinado às atividades farmacêuticas, sejam elas de pesquisa, ensino, produção ou controle de medicamentos e alimentos, diagnóstico laboratorial, entre outras.

A prevenção ou a redução do risco de desenvolver doença profissional por exposição a diversos agentes, presentes no ambiente de laboratório, podem ser alcançadas pelo uso de práticas seguras nas atividades laboratoriais e de outras medidas que visam a preservar a saúde e o meio ambiente.

Neste capítulo, serão abordados aspectos importantes sobre a biossegurança nas atividades laboratoriais, como organização das atividades, práticas seguras e medidas de controle, organização estrutural e operacional, avaliação dos riscos ambientais, entre outros.

ORGANIZAÇÃO DAS ATIVIDADES NO LABORATÓRIO

A organização das atividades no laboratório é um aspecto fundamental para a segurança do pesquisador ou analista e para a garantia de resultados precisos e de qualidade. A falta de organização no ambiente de trabalho pode gerar situações de risco para o analista e para outros indivíduos presentes no local, além de promover danos às instalações prediais. As situações de risco predispõem à ocorrência de acidentes que podem ser irreversíveis, levando ao afastamento temporário ou definitivo do analista ou pesquisador. Portanto, é fundamental que qualquer atividade laboratorial seja previamente planejada e executada em ambiente seguro[1].

No ambiente de laboratório, é preciso considerar as condições de trabalho e todos os fatores que oferecem risco ao analista, como as instalações, os locais de armazenamento, o manuseio de produtos químicos, as condições operacionais dos equipamentos, as bancadas, os equipamentos de proteção, entre outros[1].

Um experimento ou qualquer outra atividade laboratorial exige um planejamento prévio e um roteiro para execução adequada e segura do trabalho e orientação para descarte dos resíduos gerados. O planejamento das atividades e a organização do ambiente de trabalho são essenciais para detectar qualquer dificuldade que possa prejudicar a realização dessas atividades ou, ainda, expor o analista a riscos ocupacionais. No Quadro 1, estão descritas algumas orientações que auxiliam na organização e no planejamento das atividades laboratoriais[1-3].

PRÁTICAS SEGURAS NO LABORATÓRIO

As práticas seguras no laboratório são um conjunto de procedimentos que visam reduzir a exposição dos analistas a riscos no ambiente de trabalho. Essas práticas compreendem a ordem e a limpeza dos materiais, a separação e a limpeza das áreas de trabalho, o manuseio adequado de equipamentos elétricos, substâncias químicas, materiais biológicos e radioativos, o uso adequado de equipamentos de proteção e segurança, entre outras[1,2,4].

Quadro 1. Orientações para planejamento e organização das atividades laboratoriais

Atividades	Orientações
Manuseio de equipamentos e instrumentos	Verificar a disponibilidade e o funcionamento do equipamento; agendar a data e o horário de uso para os equipamentos de multiusuários; ter disponível o protocolo de uso e limpeza do equipamento; ter disponível o manual do equipamento e o nome do responsável para solucionar dúvidas de operação ou para as situações de emergência.
Manuseio de vidraria e outros materiais	Verificar o estado de limpeza, a presença de trincas e rachaduras, a resistência térmica, a resistência química e a compatibilidade com solventes e outros reagentes. Observar a necessidade de tratamento prévio (esterilização, descontaminação química ou biológica).
Preparo de reagentes e soluções	Preparar antecipadamente as quantidades necessárias, observando as condições de armazenamento, a estabilidade e o prazo de validade. Observar se o reagente/solução deve ser preparado apenas no momento do uso. Seguir os procedimentos adequados de manuseio e armazenamento dos produtos químicos, observando a compatibilidade entre os mesmos.
Condições de segurança no laboratório	Observar a necessidade do uso de equipamentos de proteção individual (EPI), tais como: óculos de segurança, máscaras, aventais, luvas e outros. Observar a necessidade do uso de equipamentos de proteção coletiva (EPC), como capela de segurança química para a manipulação de substâncias químicas tóxicas, cabine de segurança biológica para a manipulação de materiais biológicos, entre outros.
Sinalização das áreas de trabalho	Observar os sinais universais de indicação de risco químico, biológico, físico ou outro. As atividades de alto risco devem ser realizadas em área restrita e bem sinalizada. Os analistas e os visitantes autorizados devem ser informados sobre os riscos a que possam estar expostos. A sinalização dos materiais de combate a incêndio (extintores e hidrantes), das saídas de emergência e das rotas de fuga para situações de emergência também deve ser indicada nos ambientes laboratoriais e nos corredores de acesso.
Tempo de execução da atividade	É possível determinar o tempo necessário para a execução de uma atividade laboratorial, quando os materiais estão disponíveis e o procedimento é bem planejado. É importante ressaltar que as atividades realizadas por períodos muito longos e sem planejamento prévio predispõem a acidentes que podem causar danos irreparáveis à saúde do analista, principalmente pela falta de socorro imediato.
Procedimentos operacionais	Elaborar e/ou ter disponíveis os procedimentos necessários para realizar as atividades laboratoriais. Os protocolos escritos auxiliam na otimização do trabalho, na redução do tempo gasto nas atividades laboratoriais e na redução dos riscos de acidentes.
Práticas seguras	As recomendações de práticas seguras de laboratório devem ser conhecidas e cumpridas, com a finalidade de reduzir a exposição dos analistas aos riscos ambientais.
Registro das atividades	Os reagentes, os materiais e os equipamentos utilizados, assim como os resultados e as análises de dados obtidos, devem ser registrados de modo a assegurar a rastreabilidade dos procedimentos experimentais realizados e dos dados obtidos.

A *limpeza das áreas do laboratório* (bancadas, pisos, equipamentos, instrumentos e demais superfícies) deve ser realizada regular e imediatamente após o término de uma atividade. Essa tarefa é essencial para reduzir os riscos de contaminação acidental pelo analista ou por outro indivíduo presente no local.

A *desinfecção* do ambiente é empregada antes e após a atividade laboratorial para prevenir contaminação com materiais ou produtos biológicos que ofereçam risco. Em algumas situações, é necessário o uso de radiação ultravioleta; portanto, cuidados devem ser tomados para evitar exposição a esse tipo de radiação.

A *descontaminação* e a limpeza inicial de vidrarias, amostras biológicas ou equipamentos têm de ser realizadas regular e imediatamente após o derramamento de produtos químicos, radioativos ou biológicos.

O *manuseio e o transporte de vidrarias e de outros materiais* devem ser realizados de forma segura. As vidrarias maiores têm de ser colocadas na parte posterior e à direita na bancada. Para o transporte das vidrarias, deve-se utilizar um suporte firme, evitando quedas e derramamentos. As vidrarias mal posicionadas ou transportadas podem causar acidentes e, se contiverem produtos tóxicos, os derramamentos podem gerar situações de emergência com consequências desastrosas. Outros materiais, como tubos de ensaio, estantes, placas, tubos de microcentrífuga e outros, precisam ser posicionados à frente da bancada, à esquerda do equipamento a ser utilizado, para oferecer mais conforto ao analista. Os fatores ergonômicos (posição do analista, dos instrumentos e dos materiais) devem ser considerados no planejamento e na execução das atividades laboratoriais.

Os *equipamentos* têm de ser posicionados na parte direita anterior das bancadas, evitando-se que os cabos elétricos atravessem a área de trabalho. Os fios dos cabos elétricos devem estar bem protegidos e identifi-

cados quanto à fonte (110V/220V) para evitar curtos ou outras situações de risco. Não devem ser utilizadas extensões elétricas para ligar equipamentos, pois elas podem afetar a estabilidade da energia ou gerar sobrecarga elétrica criando uma situação de emergência. Cabe ressaltar que cabos e fios soltos podem causar acidentes graves, principalmente no local de trânsito de pessoas. De acordo com a Norma Regulamentadora n. 12 do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), que trata da segurança no trabalho em máquinas e equipamentos, as áreas de circulação e os espaços em torno de equipamentos precisam ser dimensionados de modo que os analistas possam movimentar-se com segurança[5].

O *manuseio e o armazenamento adequados de produtos químicos* são necessários para evitar riscos, como queimaduras, explosões, incêndio e fumaça tóxica. Portanto, o conhecimento das propriedades das substâncias químicas em uso e os procedimentos de manuseio adequados reduzem significativamente as situações de risco ocupacional. Os frascos de produtos químicos têm de ser manipulados com cuidado e um carrinho deve ser usado para transportar um recipiente pesado ou vários recipientes de uma área para outra[2]. Frascos de vidro com produtos químicos têm de ser transportados em recipientes de plástico ou borracha que os protejam de vazamento e, quando quebrados, contenham o derramamento. Os materiais para contenção de derramamento de produtos químicos devem estar disponíveis em locais estratégicos. O manuseio de produtos químicos voláteis (solventes), metais, ácidos e bases fortes têm de ser realizado em capela de segurança química. As substâncias inflamáveis precisam ser manipuladas com extremo cuidado, evitando proximidade de equipamentos e fontes geradoras de calor. O uso de equipamento de proteção individual (EPI), como óculos de proteção, máscara facial, luvas, aventais e outros durante o manuseio de produtos químicos é obrigatório.

Todos os produtos químicos e frascos com soluções e reagentes devem ser adequadamente identificados, com a indicação do produto, as condições de armazenamento, o prazo de validade e a toxicidade do produto. Na Figura 1, podem ser observados alguns símbolos utilizados para indicação da classe de produto químico.

O laboratório deve ter disponível a Ficha de Informações sobre Segurança de Produtos Químicos (FISPQ), que contém informações sobre os riscos e os cuidados no manuseio do produto químico e também a conduta adequada em situações de emergência[4,6]. As FISPQ devem ser acessíveis como parte de um manual de segurança ou operações. (Ver detalhes no Capítulo 5 – "Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos".)

No laboratório, devem ser mantidas pequenas quantidades de produtos químicos, a fim de reduzir o risco de acidentes. Produtos químicos em grandes quantidades têm de ser armazenados em almoxarifados muito bem organizados, de acordo com a compatibilidade química, e administrados por pessoal qualificado[2,4].

Os resíduos de produtos químicos devem ser acondicionados em recipientes adequados, em condições seguras, e encaminhados ao serviço de descarte de resíduos da instituição para o destino final. É preciso tomar cuidado no manuseio e no transporte de resíduos de produtos químicos de modo a preservar a saúde e o meio ambiente[6,7]. Com a finalidade de reduzir a exposição do pessoal e o impacto ambiental, devem ser adotados procedimentos que visem a minimizar a geração de resíduos químicos e outros resíduos laboratoriais[8].

Os *materiais biológicos* têm de ser manuseados de forma segura e em cabine de segurança biológica, de acordo com o nível do risco ambiental. Cuidados especiais precisam ser tomados para prevenir o risco de exposição acidental a culturas de microrganismos, sangue e outros líquidos corporais, provocados por acidentes ou instrumentos perfurocortantes[4,6,9,10]. Os materiais biológicos a serem transportados e descartados têm de ser adequadamente embalados para evitar derramamento acidental e identificados com o símbolo de resíduo infectante (Figura 2). Os resíduos de materiais biológicos devem ser descontaminados antes de serem descartados como resíduos da classe A[6,7,10]. (Ver detalhes no Capítulo 4 – "Manuseio, controle e descarte de produtos biológicos".)



Figura 1. Símbolos de identificação de classes de produtos químicos.



Figura 2. Símbolo de identificação de material biológico infectante.

Procedimentos e precauções específicos devem ser seguidos no manuseio de materiais ou equipamentos que emitam *radiação ionizante* ou *não ionizante*. Os locais de armazenamento e as áreas de trabalho com materiais radioativos (radiação ionizante) precisam ser identificados com o símbolo específico, apresentado na Figura 3. O pessoal do laboratório deve estar capacitado a manipular os materiais que possuem radioisótopos, seguindo os procedimentos de aquisição, manuseio, descontaminação e descarte desses materiais[4,6]. (Ver detalhes no Capítulo 6 – "Biossegurança no uso de radioisótopos".)

O uso de EPI e EPC é fundamental para a prática das atividades laboratoriais de forma a assegurar a saúde do pessoal e minimizar a possibilidade de acidentes. Tais equipamentos devem estar disponíveis no laboratório para executar procedimentos específicos que exijam seu uso. Para adquiri-los, deve-se considerar a relação custo/benefício, pois o afastamento do laboratorista acidentado e o tratamento dispensado à sua recuperação podem representar gastos elevados para a instituição, muitas vezes, superior ao custo do investimento em equipamentos de proteção e treinamento do pessoal de laboratório. (Ver detalhes no Capítulo 3 – "Equipamentos de proteção individual e coletiva".)

As *atividades administrativas*, assim como os cálculos e a análise de resultados, devem ser realizadas em local separado da área de trabalho, para evitar contaminação e derramamento sobre manuais e livros de anotações e também reduzir a exposição dos analistas e demais trabalhadores a riscos desnecessários.



Figura 3. Símbolo de identificação de material radioativo.

O *pessoal de apoio*, responsável pela limpeza geral e pela lavagem da vidraria do laboratório, tem de ser orientado quanto aos cuidados na execução de suas tarefas. É preciso informar sobre os riscos ambientais a que pode estar exposto. Devem ser dadas orientações sobre o descarte adequado de lixo comum, resíduos biológicos, vidros quebrados e outros resíduos do laboratório. O pessoal de apoio não deve manusear frascos vazios que contenham substâncias químicas, pois estes têm de sofrer um tratamento prévio de limpeza e depositados em locais próprios e protegidos para que não sejam utilizados para outras finalidades.

Os *uniformes*, *aventais* e *outras vestimentas de trabalho* precisam ser compatíveis com o tipo de atividade a ser executada. As atividades laboratoriais exigem o uso de calça comprida, calçado baixo, fechado e confortável, e avental de mangas compridas. O uso de lentes de contato, maquiagem e adornos deve ser evitado.

A *pipetagem com a boca é terminantemente proibida*; portanto, devem ser utilizados sistemas automáticos de pipetagem. A ingestão de líquidos corrosivos e tóxicos leva a consequências extremas, podendo causar queimaduras graves e provocar a morte.

A ingestão de alimentos e bebidas e o uso de cosméticos, cabelos soltos, adornos e barba devem ser proibidos para evitar sua contaminação com produtos manuseados no laboratório e risco de acidentes durante a operação de equipamentos.

Os ouvidos têm de estar desobstruídos de qualquer tipo de *equipamento sonoro*, pois os analistas precisam estar atentos a qualquer ruído estranho à sua volta, principalmente os emitidos pelos equipamentos em operação.

A *higienização das mãos* deve ser feita com frequência durante o dia de trabalho, antes e após o contato com produtos químicos, radioativos ou biológicos, após a retirada das luvas, e antes de comer ou beber.

MEDIDAS DE CONTROLE E PROTEÇÃO

Outro aspecto a ser considerado na segurança das atividades laboratoriais é o conjunto de medidas de controle e proteção contra os riscos ambientais, como de proteção coletiva e individual, de organização do trabalho e de higiene e conforto.

As *medidas de proteção coletiva* são as mais importantes, porque com elas o pessoal de laboratório fica protegido. Algumas medidas de proteção coletiva para atividades laboratoriais estão indicadas no Quadro 2.

As *medidas de proteção individual*, pelo emprego de EPI, são controles possíveis da exposição a agentes am-

bientais que, se adequadamente utilizados, protegem a saúde e a integridade física do pessoal de laboratório. A Norma Regulamentadora n. 6 do MTE[11] determina o cumprimento das exigências legais para uso de EPI. Cabe lembrar que o uso deste tipo de equipamento possibilita apenas reduzir a probabilidade de risco à saúde e ao meio ambiente, pois o agente perigoso continua presente. Portanto, as medidas de proteção individual devem ser indicadas para situações em que há manuseio direto de agentes químicos, biológicos ou de outra natureza, e em situações específicas que são indicadas no Quadro 2.

As *medidas organizacionais*, no laboratório, têm a finalidade de proporcionar ambientes mais cooperativos e motivadores, evitando sacrifícios desnecessários do pessoal de laboratório. Algumas medidas de organização dos processos e atividades laboratoriais são indicadas no Quadro 2.

As *medidas de higiene* e *conforto* também são indispensáveis na execução de atividades laboratoriais, principalmente quando há manuseio de produtos perigosos à saúde. As condições sanitárias e de conforto nos locais de trabalho estão definidas na Norma Regulamentadora n. 24 do MTE[15]. Essas medidas estabelecem a higiene pessoal, que previne doenças ocupacionais e evita a transmissão de doenças contagiosas, e a disponibilidade de banheiros, lavatórios, vestiários, armários, bebedouros, refeitório e áreas de lazer.

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL E OPERACIONAL DO LABORATÓRIO

O ambiente de laboratório deve ser adequadamente projetado e dimensionado de modo a oferecer condições confortáveis e seguras de trabalho. As áreas de trabalho de maior risco (manuseio de produtos químicos e biológicos) têm de ser separadas das de menor risco (área administrativa). O ambiente de laboratório também deve oferecer boas condições de iluminação, ventilação, temperatura, umidade, circulação e outras que permitam a realização do trabalho de forma confortável e produtiva[1,14,16,17].

A organização estrutural e funcional do laboratório deve ainda prever o mobiliário, as comunicações, o tratamento acústico, as linhas de serviços (gás, água, vácuo, ar comprimido, vapor, eletricidade, esgotamento sanitário), as barreiras de controle e de contenção, os equipamentos de combate a incêndio, entre outras instalações. Na elaboração do projeto físico é preciso cumprir as exigências legais vigentes quanto às especificações da arquitetura e dos padrões de segurança para laboratório, como espaço físico, construção resistente ao fogo com isolamento de algumas áreas, número e local das saídas de emergência, largura dos corredores, alarme de proteção automático contra incêndio, iluminação de segurança, abastecimento e drenagem de água[14,16,17].

O projeto de construção (edificação) e das instalações do laboratório deve-se basear na abrangência de atividades a serem realizadas, nos materiais e nos produtos empregados, no espaço físico e no dimensionamento necessário para a execução das atividades e nas condições de segurança do pessoal de laboratório e do meio ambiente. No planejamento, é preciso considerar a necessidade de redimensionamento futuro, decorrente de aperfeiçoamento ou substituição dos métodos empregados e de ampliação ou separação das áreas de trabalho[2,17,18].

Quanto à distribuição e ao espaço físico das áreas de trabalho no laboratório, devem ser examinados os

Quadro 2. Principais medidas de proteção no laboratório[12-14]

Proteção coletiva	Proteção individual	Organizacionais
Substituição de matérias-primas e insumos por produtos menos prejudiciais à saúde.	Sempre que as medidas de proteção coletivas forem inviáveis ou não ofereçam completa proteção contra os riscos de acidentes de trabalho e/ou doenças ocupacionais.	Mudança do método de trabalho, tornando o procedimento mais flexível e ajustado à capacidade do laboratorista.
Alteração no processo laboratorial empregando novas tecnologias que minimizem as situações de risco e o impacto ambiental.	Enquanto as medidas de proteção coletiva estiverem sendo providenciadas e implementadas.	Reestruturação organizacional, adequando o ritmo de trabalho à capacidade do laboratorista.
Isolamento da fonte de risco, como o isolamento acústico de equipamentos geradores de ruído.	Em situações de emergência.	Participação do pessoal de laboratório na organização do trabalho, favorecendo a integração e melhorando o ambiente de trabalho.
Instalação de sistemas de ventilação, de exaustão ou insuflamento, que evitem a dispersão de contaminantes no ambiente, diluam as concentrações de poluentes e ofereçam conforto térmico.	Em procedimentos de curta duracão.	Redução do tempo de exposição do pessoal de laboratório aos riscos, pelo estabelecimento de rodízio ou pela redução da jornada de trabalho.

aspectos operacionais de cada tipo de atividade, as vias de acesso, o fluxo das atividades, a circulação e o número de laboratoristas nas áreas a serem definidas. O estudo das vias de acesso tem de considerar o transporte de materiais, reagentes, equipamentos ou amostras e o deslocamento do pessoal entre as diversas áreas do laboratório. Deve levar em conta também o fluxograma das atividades, permitindo o acesso a áreas de maior risco apenas a pessoas autorizadas, conforme estabelecido no organograma funcional do laboratório. Adicionalmente, quanto mais bem distribuído for o espaço destinado a atividades específicas, mais fácil será o acondicionamento do ambiente e das barreiras de controle e de contenção[18,16].

No *projeto arquitetônico*, devem ser considerados: a) localização da edificação; b) dimensionamento, com projeções para automação e serviços em expansão; e c) organização espacial e funcional, que deve contemplar o fluxograma das atividades e o programa de necessidades[18].

O *fluxograma* é preparado com base nas rotas de transporte de materiais, amostras, animais e resíduos, na circulação do pessoal técnico e no isolamento de áreas específicas. O *programa de necessidades* é elaborado para cada unidade de espaço, de acordo com as atividades desenvolvidas, os equipamentos, as áreas úteis correspondentes, o grau de flexibilidade desejado, as relações funcionais e as condições ambientais.

No *projeto de construção*, é preciso considerar várias características estruturais específicas, como espaço e circulação, sobrecargas, paredes, teto e pisos, portas, janelas, mobiliário, barreiras de controle, comunicações, tratamento acústico, ventilação e exaustão, barreiras de controle, linhas de serviços, higiene pessoal e equipamentos de segurança e a prevenção de incêndio. Devem também ser examinados os níveis de contenção física,

Quadro 3. Características da planta física e das instalações do laboratório

Característica	Detalhamento
Espaço e circulação	O espaço deve ser adequado para a execução do trabalho, a limpeza e a manutenção. Os corredores devem ser suficientemente largos para permitir a circulação. Deve haver espaço e instalações adequadas para o manuseio, em condições seguras, de solventes, materiais radioativos e gases comprimidos. Essas características devem estar de acordo com o indicado na Norma Regulamentadora n. 8 do MTE[19].
Iluminação	Deve ser suficiente para cada tipo de atividade, considerando a distribuição adequada das lâmpadas no ambiente de acordo com as janelas, a distribuição de bancadas, os equipamentos nos quais são realizados os trabalhos e as cores do ambiente (teto, paredes e piso). A iluminação inadequada pode reduzir a capacidade visual, causar lesão do aparelho visual e um maior número de acidentes, além de aparecimento de fadiga e diminuição da produtividade do pessoal de laboratório. Se uma área específica requer maior nível de iluminação, devem ser utilizados dispositivos auxiliares diretamente sobre a superfície de trabalho.
Paredes, teto e pisos	Devem ser lisos, fáceis de limpar, impermeáveis aos líquidos e resistentes aos produtos químicos e aos desinfetantes. Os pisos não devem ser escorregadios. O teto deve proporcionar uma vedação contínua, de forma a evitar que os contaminantes se infiltrem em áreas de difícil acesso.
Portas	Devem ter largura suficiente para permitir a passagem de equipamentos; de preferência, adotar portas duplas. As portas devem abrir para fora e ter visores.
Janelas	Devem ser altas para evitar a incidência direta da luz natural e possibilitar a instalação de bancadas.
Mobiliário e revestimento	Devem ser impermeáveis à água e resistentes aos desinfetantes, aos produtos químicos manuseados e ao calor moderado. O mobiliário deve ser projetado de modo a permitir a adequada postura (ergonomia) dos trabalhadores e de acordo com a flexibilidade desejada para as atividades.
Linhas de serviço	Devem ser consideradas o suprimento de energia, água, gás, ar comprimido e as linhas de esgotamento sanitário. O suprimento de outros serviços, como gases líquidos e especiais (oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e outros) e de água destilada ou deionizada, depende da frequência da necessidade, do custo/benefício e de métodos alternativos. É conveniente utilizar sistema de cores para identificar as tubulações e facilitar a manutenção, de acordo com a Norma Regulamentadora n. 26 do MTE[20]. O dimensionamento da rede de energia elétrica deve ser projetado com capacidade 25 a 30% maior, prevendo ampliações e futuras expansões dos circuitos, segundo a Norma Regulamentadora n. 10 do MTE[21]. Os tipos de tomadas devem seguir o padrão internacional (110V/220V) de modo a evitar ligações erradas de equipamentos. Todos os equipamentos devem ser instalados com base no estudo prévio da distribuição de carga elétrica, para evitar sobrecargas que podem provocar danos aos equipamentos ou provocar incêndios. As tomadas devem ser construídas e localizadas de modo a evitar que o derramamento acidental de um líquido possa provocar curto-circuito. Fontes de energia elétrica de emergência (geradores) para equipamentos específicos e sistemas de iluminação de emergência devem também ser contempladas no projeto elétrico[21]. O sistema de esgotamento sanitário deve prever a instalação de uma estação de tratamento de efluentes.

Continua

Quadro 3. Características da planta física e das instalações do laboratório *(continuação)*

Característica	Detalhamento
Ventilação e exaustão	O laboratório deve ser dotado de sistemas de renovação constante do ar e eliminação de gases e vapores perigosos gerados, que garantam a qualidade do ar ambiente. Devem ser avaliadas as necessidades básicas, tais como: a taxa de renovação, o equilíbrio (pressão) e a filtração do ar requeridos; e o controle da temperatura interna e a umidade relativa. No dimensionamento, devem ser considerados a área a ser ventilada, a vazão das capelas, das coifas e de outros sistemas de exaustão, os equipamentos geradores de calor (estufas, chapas aquecidas, mantas aquecedoras), o isolamento entre o sistema de ventilação e de exaustão. Os condutos de exaustão devem ser adequadamente vedados para evitar vazamentos que podem transportar substâncias explosivas, tóxicas, ou corrosivas ou mesmo microrganismos patogênicos para outras áreas. Nos laboratórios que manuseiam agentes patogênicos de nível 3 e 4, deve ser considerado um sistema de pressão negativa, para impedir o vazamento do ar contaminado para o ambiente. (Ver níveis de contenção física no Quadro 6).
Sobrecargas	A sobrecarga deve ser avaliada de acordo com o peso dos equipamentos a serem instalados.
Sistemas de comunicação	Os serviços de telefonia, áudio e vídeo são restritos às áreas administrativas e escritórios e devem ser planejados de forma a não interferirem nas atividades laboratoriais. Nas áreas confinadas (câmara fria, laboratório fotográfico e outros), deverá ser adotado um sistema de intercomunicadores. Os sistemas de comunicação podem ser necessários para avaliação e monitoramento das condições de abastecimento de energia dos sistemas de ventilação, refrigeração, detecção e alarme de incêndio, entre outras.
Tratamento acústico	O nível de ruído pode ser diminuído pela instalação de barreiras acústicas e da redução das áreas das superfícies vibrantes. Os equipamentos e processos geralmente utilizados em laboratórios não produzem um alto nível de ruído. Os materiais acústicos empregados nas áreas do laboratório devem ser revestidos de fácil limpeza.
Barreiras de controle	Devem ser construídas de modo a controlar as condições ambientais das áreas fechadas e restritas e a reduzir a probabilidade de contaminação. Por exemplo, barreiras do tipo vestiário com sistemas de dupla porta, câmaras pressurizadas e outros. As barreiras de controle também se aplicam para o isolamento de áreas limpas, necessárias em laboratórios de pesquisa biológica, em hospitais, na indústria farmacêutica e de alimentos.
Higiene pessoal e equipamentos de segurança	Deve ser prevista a necessidade de EPC (capelas de segurança química, cabines de segurança biológica e outros). Devem ser instalados lavatórios para higienização das mãos e chuveiros de emergência e lava-olhos, além de pias para lavagem e descontaminação de materiais. Devem ser previstos instalações sanitárias e vestiários externos ao ambiente de laboratório.
Prevenção de incêndio	Devem ser projetados corredores largos e indicação das saídas de emergência para evacuação rápida, portas à prova de fogo, instalações fixas (hidrantes) de extinção de incêndio, sistemas de alarme e sinalização de segurança de unidades móveis (extintores) de combate a incêndio e aparelhos de proteção respiratória devem estar disponíveis. Os extintores devem atender os padrões estabelecidos pela Norma Regulamentadora n. 23 do MTE[22].
Área de armazenamento	Devem ser previstas áreas separadas, fora do ambiente de trabalho, destinadas ao armazenamento de produtos químicos, cilindros de gases e outros materiais e produtos. Os locais de armazenamento de solventes devem ser equipados com *plugs* e lâmpadas antiexplosão, além de portas contrafogo, segundo a Norma regulamentadora n. 10 do MTE[21]. Os produtos químicos devem ser armazenados de acordo com a compatibilidade química entre as substâncias.

para garantir a segurança biológica e a sinalização adequada do ambiente de laboratório. No Quadro 3, são listadas algumas características da planta física e das instalações a serem previstas no planejamento do projeto de construção do laboratório[16-18].

No laboratório, a delimitação de áreas e a identificação de equipamentos de segurança e condutos de líquidos e gases são feitas pelo emprego de diferentes *cores*, as quais permitem a sinalização de segurança no ambiente de trabalho. No Quadro 4, estão descritas as cores adotadas para a delimitação das áreas no laboratório, segundo a Norma Regulamentadora n. 26 do MTE[20].

As áreas do ambiente de laboratório devem ser adequadamente sinalizadas de forma a facilitar a orientação dos usuários, advertir quanto aos riscos existentes e restringir o acesso de pessoas não autorizadas. Os riscos ocupacionais devem ser conhecidos e identificados por símbolos específicos, como representados nas Figuras 1 a 3.

No Quadro 5, estão descritas as principais classes de riscos ocupacionais, as quais o pessoal de laboratório pode estar está exposto (físicos, químicos e biológicos)[23]. Também são indicados os riscos ergonômicos (postura inadequada, ritmo intenso e períodos prolongados de trabalho, situação de estresse e outros)[24], os

Quadro 4. Descrição das cores adotadas para delimitar áreas do laboratório

Cor	Utilização
Branca	Delimitar áreas isoladamente ou combinada com a cor preta.
Amarela	Indicar "Atenção" ou "Cuidado".
Alaranjada	Identificar partes móveis de máquinas e equipamentos.
Vermelha	Indicar os equipamentos e os aparelhos de proteção e combate a incêndio, além das rotas de fuga e da saída de emergência.
Púrpura	Indicar os perigos provenientes das radiações eletromagnéticas penetrantes e de partículas nucleares.
Verde	Identificar dispositivos de segurança, como chuveiros de emergência, lava-olhos, caixas de primeiros socorros e caixas com materiais para situações de emergência (máscaras contra gases).
Azul	Indicar equipamentos fora de uso.
Preta	Indicar coletores de esgoto ou lixo.

Quadro 5. Classificação dos principais riscos ocupacionais

Riscos Físicos	Ruído	Vibrações	Radiações ionizantes e não ionizantes	Temperaturas extremas	Umidade
Riscos Químicos	Poeiras, fumos, neblinas, névoas	Gases e vapores	Explosivos, inflamáveis	Corrosivos, irritantes	Tóxicos, cancerígenos
Riscos Biológicos	Vírus, Bactérias	Protozoários	Parasitas	Insetos	Oragnismos geneticamente modificados (OGM)
Riscos Ergonômicos	Esforço físico ou carga de peso excessivos	Produtividade ou ritmo de trabalho excessivos	Postura inadequada	Jornada de trabalho prolongada	Monotonia, repetitividade
Riscos de Acidentes	Arranjo físico e iluminação inadequados	Equipamentos inadequados, defeituosos ou sem proteção	Sobrecarga na eletricidade	Risco de incêndio ou explosão	Armazenamento de materiais inadequado

quais podem causar desgaste físico e mental, instabilidade emocional e depressão. Os riscos de acidentes também têm de ser avaliados, pois podem gerar lesões temporárias, definitivas e até morte.

Os riscos ocupacionais podem ser indicados por cores que facilitam a sua identificação no laboratório.

O ambiente de laboratório onde se manipulam materiais biológicos deve ser adequadamente construído e organizado, além de ter mecanismos de contenção específicos de acordo com a classe de risco biológico. Nos laboratórios em que são manuseados agentes infecciosos, devem ser atendidos os requisitos de segurança específicos, denominados *níveis de contenção física* (Quadro 6), que são classificados de acordo com o grau de risco biológico[4,6,16,25].

Foram estabelecidas diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral, pelo MTE, em sua Norma Regulamentadora n. 32[26].

Quadro 6. Níveis de contenção física para risco biológico

Níveis	Aplicações
1	Manuseio de microrganismos do grupo de risco 1. São exigidos bom planejamento espacial e funcional e adoção de práticas seguras de laboratório.
2	Manuseio de agentes do grupo de risco 2. É necessária maior proteção da equipe de laboratório devido à exposição ocasional e inesperada de microrganismos pertencentes a grupos de riscos mais elevados.
3	Manuseio de agentes do grupo de risco 3. O laboratório requer desenho e construção especializados, com controle restrito nas fases de construção, inspeção, operação e manutenção. A equipe de laboratório deve receber um treinamento específico quanto aos procedimentos de segurança na manipulação desses agentes. O acesso a essa área tem de ser restrito a pessoal autorizado.
4	É o mais alto nível de contenção. O laboratório de nível 4 precisa ser instalado em área isolada e funcionalmente independente deoutras áreas. Esse tipo de laboratório requer barreiras de contenção e equipamentos de segurança biológica especiais, área de suporte laboratorial e um sistema de ventilação específico.

O *projeto de segurança* do laboratório deve contemplar diversos requisitos estruturais, dimensionados de modo a reduzir os riscos no ambiente de trabalho[9,22]. Entre esses requisitos, pode-se citar:

- Previsão de corredores suficientemente largos para a passagem de analistas que transportem materiais ou equipamentos;
- Disponibilidade de extintores e outros dispositivos de combate a incêndio;
- Previsão de rotas de fuga que permitam fácil evacuação da área em caso de incêndio;
- Sinalização adequada das áreas de risco e das rotas de fuga;
- Disponibilidade de sistema de geração elétrica de emergência.

PROGRAMA DE SEGURANÇA

Com o objetivo de reduzir os riscos ambientais e prevenir acidentes, o laboratório deve ter um programa de segurança que permita avaliar os riscos ambientais, adequar as condições de trabalho, estabelecer as práticas seguras de laboratório e promover o treinamento em situações de emergência, cumprindo as normas de segurança vigentes[9].

Os *requisitos básicos do programa de segurança* são:

1. Disponibilidade e uso adequado de equipamentos de proteção;
2. Organização e realização de programas de treinamento;
3. Manutenção preventiva de equipamentos e instrumentos;
4. Disponibilidade de extintores e outros dispositivos de combate a incêndio;
5. Treinamento de combate a incêndio e em situações de emergência;
6. Sinalização adequada das áreas de risco e das rotas de fuga;
7. Disponibilidade de sistema de geração elétrica de emergência;
8. Planejamento e execução do Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA);
9. Planos de contenção quando ocorrem situações de emergência (derramamentos, vazamentos, contaminações, explosões e outros);
10. Planos de emergência para enfrentar situações críticas, como falta de energia elétrica, água, incêndio e inundações;
11. Sistema de registro dos testes de segurança e desempenho dos equipamentos.

O programa de segurança do laboratório deve estabelecer o *Plano de Segurança Química*, que trata da exposição ocupacional a riscos químicos, e o *Plano de Segurança Biológica*, que aborda a exposição ocupacional a microrganismos. Segundo a Occupational Safety and Health Administration (OSHA), cada laboratório deve designar o Coordenador de Segurança, o qual será responsável pelos dois planos de segurança[27,28]. Esse profissional prepara e atualiza os manuais que contêm as políticas de procedimentos de segurança, mantém os registros de treinamento e educação continuada, além dos registros de exposição a materiais perigosos. É também responsável por garantir que os dispositivos de proteção estejam disponíveis e sendo utilizados adequada e regularmente e que o laboratório funcione como um ambiente de trabalho seguro[3].

O Programa de Segurança deve estar descrito no *Manual de Segurança* do Laboratório, que deve incluir:

1. Medidas gerais de segurança;
2. Procedimentos para armazenamento, identificação, manuseio e transporte de produtos químicos, biológicos e radioativos;
3. Ações para descarte e controle ambiental dos produtos químicos, biológicos e radioativos;
4. Medidas de controle e proteção;
5. Procedimentos para uso, manutenção e descarte de EPI;
6. Medidas para uso, manutenção e controle ambiental de EPC e equipamentos de segurança;
7. Procedimentos para situações de emergência;
8. Instruções para acompanhamento médico e vacinação;
9. Programas de treinamento e educação continuada em segurança;
10. Sistema de avaliação do programa de segurança, que pode ser informal (administrativo) ou formal (inspeções e auditorias).

Os programas de biossegurança tradicionais têm enfatizado o uso de práticas operacionais seguras, equipamentos de proteção e sistemas de contenção adequados, infraestrutura física bem delineada, políticas e procedimentos de controle para redução do risco ocupacional não intencional e adoção de medidas para evitar a contaminação ambiental externa. Mais recentemente, instituições internacionais, como o Center for Disease Control and Prevention (CDC, Estados Unidos), têm se preocupado com o possível uso de produtos biológicos, químicos e radioativos como agentes de terrorismo. Várias diretrizes e recomendações sobre *biosseguridade* laboratorial têm sido propostas para evitar que os produ-

tos perigosos possam causar lesão intencional ao pessoal de laboratório[25,29-32]. Segundo o CDC, além da avaliação de risco e do plano de biossegurança, o laboratório deve ter um plano de biosseguridade, que deve incluir:

- Seguridade física (instalações, mecanismos de contenção, controle de acesso, sistemas de monitoramento interno e externo – câmeras e alarmes e outros);
- Seguridade do pessoal (credenciais, verificação da identidade, entrevistas, treinamentos, avaliação de saúde física e mental e outras medidas);
- Controle dos produtos perigosos (recebimento, uso, armazenamento) por meio de um sistema de registros, relatórios e auditorias;
- Seguridade de transporte dos produtos perigosos (documentos, acondicionamento das amostras e gerenciamento de transporte);
- Seguridade de informação (acesso ao sistema computacional);
- Planos de emergência;
- Registro de incidentes, lesões não intencionais e violações das normas internas.

AVALIAÇÃO E REPRESENTAÇÃO DE RISCOS AMBIENTAIS

A avaliação dos riscos ambientais é utilizada para reduzir o risco de manuseio de materiais e fornecer proteção ao pessoal de laboratório e ao meio ambiente. Essa análise deve basear-se na informação válida sobre a periculosidade ou a patogenicidade do agente específico[2,12]. A avaliação de riscos ambientais é útil para estabelecer o nível de biossegurança do laboratório, as práticas e os procedimentos seguros e as medidas de contenção física e biológicas[14,25], como apresentado na Figura 4.

A avaliação e a representação de riscos ambientais podem ser realizadas pelo *Mapeamento de Riscos Ambientais*, uma técnica empregada para levantar o maior número possível de informações sobre os riscos existentes nos ambientes do laboratório. Essa técnica foi desenvolvida na Itália, em 1960, para auxiliar na investigação e no controle dos riscos ambientais, contando com a participação do pessoal nas ações de planejamento e controle da saúde no ambiente de trabalho[12].

O mapeamento de riscos permite fazer um diagnóstico da situação de segurança e saúde ocupacional nos laboratórios, com a finalidade de estabelecer medidas preventivas.

O Mapeamento de Riscos Ambientais e a apresentação na forma gráfica (mapa) são atribuições da Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA) e estão previstas nas Normas Regulamentadoras n. 5 do MTE[33]. O *Mapa de Riscos* fornece dados importantes que devem ser considerados no planejamento e na execução do PPRA, previsto na Norma Regulamentadora n. 9 do MTE[34].

O objetivo principal do mapeamento de riscos é conscientizar e minimizar os riscos aos quais o pessoal de laboratório está exposto. Os objetivos específicos são:

- Reunir as informações necessárias para estabelecer o diagnóstico da situação de segurança e saúde no ambiente laboratorial;

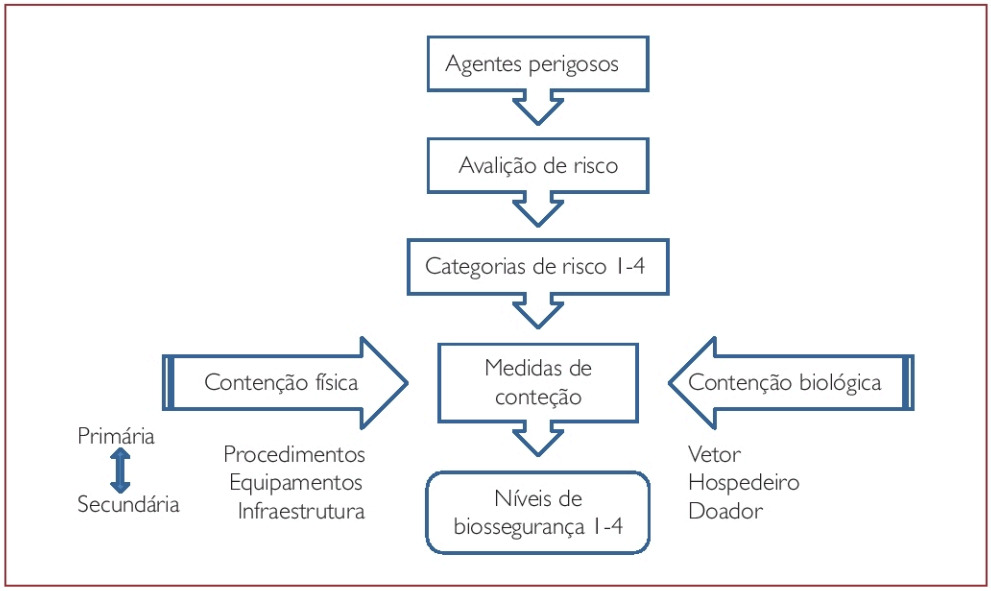


Figura 4. Contribuição da avaliação de riscos ambientais nas medidas de biossegurança do laboratório.

- Possibilitar, durante sua elaboração, a troca e a divulgação de informações entre o pessoal de laboratório;
- Estimular sua participação nas atividades de prevenção.

O mapa de riscos é construído tendo como base a planta baixa ou croqui do(s) laboratório(s). Os riscos são caracterizados graficamente por cores e círculos padronizados, que informam o tipo e a gravidade do risco em um ambiente definido[35,12]. Os círculos são desenhados na planta baixa ou croqui do ambiente mapeado e têm de ser colocados nos locais em que se encontram os riscos. Durante sua elaboração, deve-se contar com a participação dos laboratoristas e outros trabalhadores da instituição, e com a assessoria do Serviço Especializado em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (SESMT), de acordo com a Norma Regulamentadora n. 4 do MTE[36].

As principais etapas do mapeamento de riscos são descritas a seguir:

1. Conhecer o processo e os procedimentos do laboratório;
2. Identificar os riscos ambientais existentes no local;
3. Estabelecer as medidas de controle existentes e sua eficácia;
4. Identificar os indicadores de saúde;
5. Verificar os levantamentos ambientais já realizados no local;
6. Elaborar o Mapa de Riscos sobre a planta baixa ou croqui do laboratório, indicando os tipos de risco por meio de círculos.

Na primeira etapa, devem ser examinados quatro elementos fundamentais: o elemento humano (o pessoal de laboratório), o processo (as atividades desenvolvidas), o material (os instrumentos e materiais utilizados) e o ambiente (o laboratório).

Na segunda etapa, são identificados os riscos existentes, utilizando um roteiro de abordagem e a classificação dos riscos, de acordo com o Quadro 5. Para cada elemento dos grupos de agentes de riscos ocupacionais, podem ser levantados os efeitos e danos à saúde do trabalhador[12].

Na terceira etapa, estabelecem-se as medidas preventivas de proteção coletiva, organização das atividades de laboratório, proteção individual e higiene e conforto.

Na quarta etapa, são identificados os indicadores de saúde, representados por queixas mais frequentes, acidentes de trabalhos, doenças ocupacionais diagnosticadas e faltas/ausências ao trabalho.

Na quinta etapa, verificam-se os levantamentos ambientais já realizados e realiza-se a avaliação ambiental, que consiste na medição e no registro dos riscos ambientais. Nessa avaliação, é preciso observar os agentes que foram monitorados, os métodos empregados para detectar cada agente, os equipamentos utilizados para quantificar os agentes, as tabelas com os resultados das medições feitas, os setores e os pontos em que foram ultrapassados os limites de tolerância e a observância ou não das medidas de controle propostas[12].

Na sexta etapa, é realizado um relatório dos riscos encontrados e o elaborado Mapa de Riscos. Depois de discutido e aprovado pela CIPA, o Mapa de Riscos, completo ou setorial, deve ser afixado na entrada do(s) laboratório(s), de forma claramente visível e de fácil acesso ao pessoal de laboratório e outros trabalhadores. Exemplos de relatório e mapa de riscos de um laboratório podem ser observados no Quadro 7 e na Figura 5.

PROCEDIMENTOS DE EMERGÊNCIA

Todo laboratório deve definir e estabelecer medidas de segurança de acordo com o risco que produzam os agentes utilizados. Os laboratórios que manuseiam agentes patogênicos devem ter um plano de medidas de contenção para executar nos acidentes de laboratório. Estes devem ser notificados ao Departamento de Pessoal e à CIPA[33]. No Quadro 8, são apresentadas algumas recomendações sobre os procedimentos de segurança a serem adotados nas situações de emergência.

TREINAMENTO EM SEGURANÇA DE LABORATÓRIO

A segurança em ambientes de laboratório deve ser objeto de ensino e treinamento profissional permanente, a fim de que a equipe do laboratório e de apoio esteja sempre consciente dos riscos aos quais estão expostos e da importância das medidas de segurança.

A capacitação profissional em segurança é um aspecto importante da prevenção de riscos nas atividades de pesquisa e ensino, pois muitos acidentes são causados pela inexperiência e pela falta de treinamento específico. São necessários, portanto, o planejamento e a implementação de cursos de treinamento para a preparação de profissionais na área de segurança em laboratórios, que enfatizem a relevância das práticas seguras neste ambiente. No Brasil, a preocupação quanto à segurança ocupacional e patrimonial tem levado várias instituições de ensino e pesquisa a investir em treinamento do pessoal técnico, na elaboração de manuais e na implementação de normas, visando à busca de ambientes de trabalho mais seguros[37].

A falta da implementação efetiva de um programa de segurança no trabalho expõe os profissionais de laboratório a um ambiente desconfortável, atmosfera contaminada, sem equipamento de proteção e sem o apoio dos supervisores, no caso de estudantes, estagiá-

Quadro 7. Relatório de análise de riscos de um laboratório de pesquisa

Grupo de risco	Fontes	Sintomas	Doenças ocupacionais / Acidentes
1. Físico			
Ruído	Equipamentos	Irritação e mal-estar	Perda da audição
Calor	Equipamentos		
Luz UV	Lâmpadas UV	Queimaduras	Câncer de pele
2. Riscos químicos			
Sólidos	Sais, meios de cultura	Irritação nos olhos e nas vias aéreas	Doenças inflamatórias, degenerativas e câncer
Líquidos	Solventes e soluções		
Vapores	Reagentes corrosivos	Queimaduras	Perda da visão
3. Riscos biológicos			
Amostras biológicas	Sala de extração Geladeiras	Febre, cefaleia, dor muscular	Infecções (vírus, bactérias)
4. Riscos ergonômicos			
Posturas de trabalho	Bancadas, banquetas	Dores musculares	Problemas na coluna
5. Riscos de acidentes			
Chama	Bico de bunsen	Queimaduras	Incêndio
Iluminação	Laboratório	Esforço visual	Fadiga visual
Espaços inadequados	Laboratório e bancadas	Cansaço físico	Quebra de frascos com produtos tóxicos
Eletricidade	Campo elétrico	Choque	Morte

Fonte: Hirata, 2002[1].

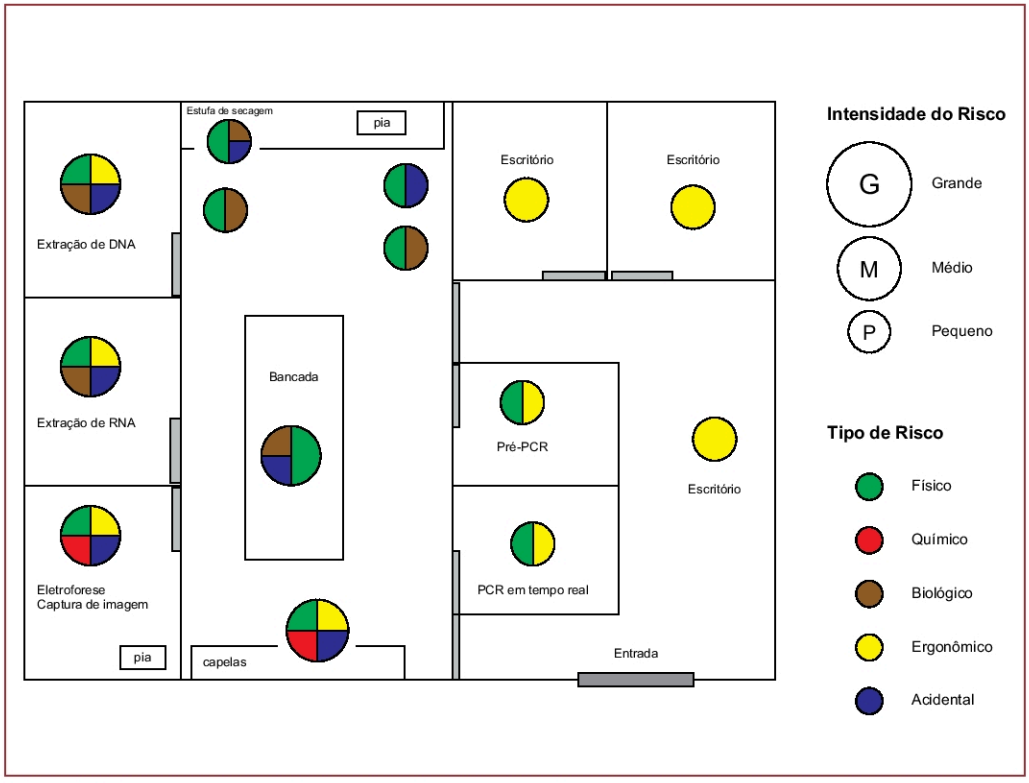


Figura 5. Representação de Mapa de Risco de um laboratório de pesquisa.

Quadro 8. Procedimentos de segurança em situações de emergência

Situação de emergência	Procedimentos de segurança
Derramamento de material biológico	No caso de acidente ou derramamento de produto biológico, deve-se evacuar o local se houver a possibilidade de formação de aerossóis. Após 30 minutos, conter o produto derramado com material com boa capacidade de absorção; aplicar um desinfetante no local do derramamento por tempo previamente definido e, em seguida, limpar adequadamente o local. Neste procedimento, também devem ser empregados EPI adequados.
Quebra de frascos contendo material biológico	Os recipientes quebrados devem ser cobertos com um pano embebido em desinfetante. Após 10 minutos, no mímino, deve-se recolher os pedaços quebrados e o pano com uma pá e esfregar o chão com um desinfetante. O material quebrado deve ser colocado em lixo "contaminado" e esterilizado em autoclave. A vassoura e a pá também devem ser colocadas em recipiente próprio e esterilizadas em autoclave ou mergulhadas em desinfetante por 24 horas. Devem ser usadas luvas descartáveis para realizar essa tarefa. Os cultivos derramados devem ser cobertos com um pano embebido em desinfetante por, pelo menos, 10 minutos e recolhidos com outros panos que devem ser colocados em lixo "contaminado". Quando os formulários de pedidos de análise ou quaisquer outros documentos são contaminados, deve-se copiar a informação em outro formulário e descartar o original no lixo "contaminado".
Inoculação acidental, cortes e lesões	Deve ser retirada a roupa de proteção, lavar as mãos e a parte lesada, aplicar um desinfetante cutâneo e dirigir-se ao serviço de saúde, onde informará ao médico do trabalho (SESMT) sobre a causa da lesão e o agente envolvido e registrar o acidente.
Derramamento de produtos químicos	A área do acidente deve ser imediatamente isolada e o responsável pela segurança deve ser comunicado. O laboratorista deve proteger-se com EPI (máscaras respiratórias, luvas, óculos de proteção e outros) e desligar o suprimento de energia elétrica, combater o fogo (se houver) e permitir a ventilação e/ou exaustão do ambiente. A contenção do produto químico deve ser realizada o mais rápido possível, empregando materiais absorventes ou areia seca. Materiais incompatíveis com o produto químico derramado não devem ser utilizados (Exemplo: pano e papel para conter o derramamento de ácido sulfúrico ou solução sulfocrômica). Recolher e descartar o produto adsorvido e limpar o local do derramamento, mantendo o ambiente bem ventilado.
Ingestão acidental de material perigoso	Transferir a pessoa afetada para o serviço de saúde, depois de retirar a roupa de proteção. Informar imediatamente ao médico sobre o agente ingerido e registrar o acidente junto ao SESMT[36].
Emissão de aerossol potencialmente perigoso	Todos devem evacuar a área afetada. Informar imediatamente o responsável pelo laboratório e o técnico de segurança. Ninguém deve entrar no local durante uma hora, até que se depositem as partículas mais pesadas. Deixar indicada a proibição de entrada no local. Após uma hora, descontaminar o local. As pessoas afetadas devem consultar um médico.
Quebra de tubos durante a centrifugação	Interromper a operação e manter a centrífuga fechada por, pelo menos, 30 minutos. Remover e descartar os fragmentos de vidro em condições seguras. Descontaminar a centrífuga, rotor e caçapas com desinfetante adequado.
Contato elétrico acidental	Causa perda da consciência e parada respiratória. Deve ser interrompido o contato elétrico e iniciar a manobra de ressuscitação cardiorrespiratória (RCR).
Equipamento de emergência	Maleta de primeiros socorros, roupa de proteção completa, sistema de respiração autônoma (para ambiente com pouco oxigênio), máscara facial e de proteção respiratória com filtros adequados para reter partículas e produtos químicos, material para desinfecção e desinfetantes, material para conter derramamento, material para sinalizar e delimitar a área.
Serviço de emergência	Os números de telefone de emergência (bombeiros, polícia e serviço de saúde) devem ser colocados em local bem visível, próximo aos telefones.

rios e funcionários. A falta de gestão em segurança do trabalho, de instalações adequadas e treinamento do pessoal gera um ambiente de alto risco para o analista e para as instalações prediais, colocando em perigo outros profissionais que não têm relação direta com o trabalho desenvolvido[37].

Para que as normas de segurança em laboratórios sejam sempre seguidas, é necessário organizar um programa de treinamento inicial e de educação continuada em segurança. Tal programa deve ser assessorado pela equipe do SESMT[36] e abranger os diversos aspectos de segurança do pessoal e do meio ambiente, considerando:

a. Segurança geral: fontes de infecção, riscos ambientais (químicos, biológicos, físicos e outros), direitos e deveres dos analistas com relação às medidas de segurança;
b. Procedimentos preparatórios: acesso aos laboratórios, higiene pessoal, roupas e equipamentos de proteção;
c. Procedimentos experimentais: emprego de pipetas mecânicas e outros dispositivos de pipetagem, redução da formação de aerossóis, uso adequado de cabines de segurança biológica e capelas de segurança química, uso adequado de autoclaves e materiais de esterilização;
d. Procedimentos de emergência: primeiros socorros, quebras e derramamentos, descontaminação do local, acidentes, combate a incêndio e evacuação do ambiente;
e. Manutenção geral do laboratório: transporte e armazenamento de materiais e produtos perigosos (biológicos, químicos, gases, radioativos e outros), manuseio adequado dos animais de laboratório, eliminação de artrópodes, roedores e outras pragas;
f. Métodos de proteção: uso de EPI e EPC, eliminação de resíduos de laboratório (esterilização, neutralização, recuperação e incineração), métodos de descontaminação, higiene pessoal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hirata RDC. Biossegurança em laboratórios de pesquisa. In: Manual de biossegurança. Barueri: Manole; 2002. p. 21-46.
2. Carvalho PR. Boas práticas químicas em biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência; 1999.
3. Seamonds B, Byrne EA. Basic laboratory principles and techniques. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. Clinical chemisty: theory, analysis, and correlation. 4. ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 2003. p. 3-44.
4. Word Health Organization (WHO). Laboratory biosafety manual. 3rd ed. Genebra: WHO Library; 2004. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf. Acesso em: 5/5/2011.
5. Norma Regulamentadora n. 12 (NR-12). Máquinas e Equipamentos, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde. RDC n. 306, de 7.12.2004. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html. Acesso em: 31/05/2011.
7. Loureiro SM. Descartes de resíduos no laboratório. In: Newslab. 2000;43:64-5.
8. Rau EH, Alaimo RJ, Ashbrook PC, Austin SM, Borenstein N, Evans MR, et al. Minimization and management of wastes from biomedical research. Environ Health Perspect. 2000;108(Suppl 6):953-77.
9. Teixeira P, Valle S. Riscos biológicos em laboratórios de pesquisa. In: Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 41-64.
10. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health (CDC/NIH). Chosewood LC, Wilson DE, editors. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th ed. Washington, DC: U.S. Government Printing Office; 2009. Disponível em: http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/BMBL.pdf. Acesso em: 5/5/2011.
11. Norma Regulamentadora n. 6 (NR-6). Equipamento de proteção individual – EPI, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
12. Campos AAM. Cipa – Comissão Interna de Prevenção de Acidentes: uma nova abordagem. 2. ed. São Paulo: Senac; 2000.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com material biológico. Brasília/DF: Ministério da Saúde; 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/reblas/diretrizes.pdf. Acesso em: 5/5/2011.
14. Kimman TG, Smit E, Klein MR. Evidence-based biosafety: a review of the principles and effectiveness of microbiological containment measures. Clin Microbiol Rev. 2008;21:403-25.
15. Norma Regulamentadora n. 24 (NR-24). Condições sanitárias e de conforto nos locais de trabalho. Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
16. Fundação Nacional de Saúde (Funasa). Projetos físicos de laboratórios de saúde pública. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 2004.
17. Alados JC, Alcaraz MJ, Aller AI, Miranda C, Pérez JL, Romero PA. Designing a clinical microbiology laboratory. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;28:453-60.
18. Simas C. Biossegurança e arquitetura. In: Cruz F, Teixeira P; Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 75-110.
19. Norma Regulamentadora n. 8 (NR-8). Edificações, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em 5/5/2011.
20. Norma Regulamentadora n. 26 (NR-26). Sinalização de Segurança, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
21. Norma Regulamentadora n. 10 (NR-10). Instalações e Serviços em Eletricidade, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
22. Norma Regulamentadora n. 23 (NR-23). Proteção contra Incêndios, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
23. Vecchio D, Sasco AJ, Cann CI. Occupational risk in health care and research. Am J Ind Med. 2003;43:369-97.
24. Norma Regulamentadora n. 17 (NR-17). Ergonomia, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em:

http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
25. Zaki AN. Biosafety and biosecurity measures: management of biosafety level 3 facilities. Int J Antimicrob Agents. 2010;36(Suppl 1):S70-4.
26. Norma Regulamentadora n. 32 (NR-32). Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/default.asp. Acesso em: 5/5/2011.
27. Occupational Safety And Health Administration (OSHA). Occupational exposures to hazardous chemicals in laboratories: final rule, Federal Register 29 CFR Part 1910.1450. 1990;55(21):300-35.
28. Occupational Safety And Health Administration (OSHA). Occupational exposures to blood-borne pathogens: final rule, Federal Register 29 CFR Part 1910.1030. 1991;(235):64003-812.
29. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory security and emergency response guidance for laboratories working with select agents. MMWR. 2002;51:1-8. Disponívem em: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5119a1.htm. Acesso em: 5/5/2011.
30. Carr K, Henchal EA, Wilhelmsen C, Carr B. Implementation of biosurety systems in a Department of Defense medical research laboratory. Biosecur Bioterror. 2004; 2:7-16.
31. Pastel RH, Demmin G, Severson G, Torres-Cruz R, Trevino J, Kelly J, et al. Clinical laboratories, the select agent program, and biological surety (biosurety). Clin Lab Med. 2006;26:299-312.
32. Word Health Organization (WHO). Laboratory biosecurity guidance: Biorisk managment, Genebra: WHO Library; 2006. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2006_6.pdf. Acesso em: 5/5/2011.
33. Norma Regulamentadora n. 5 (NR-5). Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mtb.gov.br.
34. Norma Regulamentadora n. 9 (NR-9). Programa de Prevenção de Riscos Ambientais, Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mtb.gov.br.
35. Mattos UO, Queiróz AR. Mapa de risco. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 111-20.
36. Norma Regulamentadora n. 4 (NR- 4). Serviços Especializados em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (SESMT), Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: http://www.mtb.gov.br.
37. Carvalho PR, Valle S, Amaral MAZ. A biossegurança na universidade brasileira. Laes Haes. 2001;22(6):118-26.

capítulo 3

Equipamentos de proteção individual e coletiva

Ligia Bicudo de Almeida-Muradian

INTRODUÇÃO

Este capítulo tem como objetivo auxiliar o leitor na escolha adequada dos equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva (EPC) para o uso no laboratório de análises físico-químicas, assim como prover informações acerca do manuseio e do descarte de microrganismos e de organismos geneticamente modificados (OGM).

Os laboratórios são essenciais em universidades, institutos de pesquisa, centros diagnósticos e setores de desenvolvimento e controle de qualidade em indústrias. Todos compartilham do mesmo problema: o manuseio de materiais que podem oferecer risco à saúde e ao meio ambiente. As substâncias ou os organismos manuseados e os tipos de equipamentos operados podem resultar em acidentes, como intoxicações, envenenamentos, queimaduras térmicas e químicas, contaminação por agentes biológicos, incêndios, explosões e outros. Esses acidentes podem ser evitados ou minimizados pelo uso de EPI e EPC de forma correta[1].

O funcionamento dos EPC deve ser verificado periodicamente. Um sistema de ventilação central com deficiência de exaustão, por exemplo, pode comprometer seriamente o ambiente do laboratório no qual são manuseados produtos químicos perigosos, expondo os laboratoristas a risco de saúde[3].

Devem ser selecionados EPI de boa qualidade que possuam certificados de aprovação do Ministério do Trabalho e Emprego[3]. Esses equipamentos destinam-se a proteger o laboratorista nas operações que oferecem riscos de exposição a produtos químicos ou biológicos perigosos e situações de acidentes com perfurocortantes. Os EPI são considerados dispositivos de uso individual destinados a proteger a integridade física e a saúde do trabalhador[4]. Eles devem proporcionar o mínimo de desconforto sem tirar a liberdade de movimento do analista[5].

Em âmbito internacional, a Occupational Safety and Health Administration (OSHA) define os EPI que devem ser utilizados para olhos, cabeça, extremidades, as roupas de proteção, os dispositivos de respiração e outros[6,7]. Nos Estados Unidos, além da OSHA, várias instituições estabelecem normas relativas à obrigatoriedade e ao uso de EPI. A American Society of Testing Material (ASTM) expede normas relativas aos testes a que devem ser submetidos os EPI. O American National Standard Institute (ANSI) elabora normas pertinentes a projeto, desempenho e uso dos EPI[6-9].

Segundo a Lei n. 6.514, de 22 de dezembro 1977[10], toda empresa é obrigada a fornecer aos seus funcionários, gratuitamente, EPI que se encontrem em perfeito estado de conservação segundo as necessidades de trabalho e o risco inerente.

De acordo com a Norma Regulamentadora n. 6 do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE)[11], os empregados são obrigados a usar os EPI e responsabilizar-se pela guarda e pela conservação deles.

É obrigatória a utilização de EPI na execução de qualquer atividade que envolva o manuseio de reagentes químicos e soluções, o translado e o transporte de materiais perigosos e também a circulação em áreas externas, consideradas de risco.

A Lei n. 8.974, de 5 de janeiro de 1995[12], estabeleceu as normas de segurança para o manuseio de OGM[13]. A Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005[14], revogou a Lei n. 8.974, regulamentou os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, e estabeleceu normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam OGM e seus derivados. Esse mesmo documento instituiu o Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS) e reestruturou a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), dispondo sobre a Política Nacional de Biossegurança (PNB)[15].

Os EPI são classificados de acordo com a parte do corpo que protegem: cabeça, tronco, membros superiores e inferiores[4].

PROTETORES PARA A CABEÇA

Entre os EPI usados para proteger a cabeça, podemos destacar:

a. capacetes de segurança;
b. protetores faciais;
c. óculos de segurança;
d. protetores respiratórios;
e. protetores auriculares.

Capacetes de segurança

Segundo o ANSI, os capacetes são dispositivos rígidos usados para proteger a cabeça e as partes adjacentes contra impactos, partículas desprendidas, agentes perfurantes, choque elétrico ou qualquer combinação desses efeitos[2,4,7].

Protetores faciais

Os protetores ou as máscaras faciais protegem a face contra riscos de impactos (partículas sólidas, quentes ou frias), produtos químicos (poeiras, líquidos e vapores) e radiações (raios infravermelho e ultravioleta). Oferecem uma proteção adicional à face do operador sem necessitar do uso de óculos de segurança. Proporcionam melhor proteção, pois, além dos olhos, amparam toda a face contra os respingos de substâncias potencialmente corrosivas e tóxicas, como fenol, álcalis (hidróxido de sódio e potássio) e ácidos. Protegem também contra o risco de penetração de materiais estranhos, a emissão de fagulhas de vidro, a ocorrência de refluxos de reagentes químicos e as culturas de microrganismos e outros materiais biológicos. A Figura 1 ilustra o uso de protetor facial com proteção aos raios UV e a Figura 2 mostra o uso de protetor facial na necessidade de proteção para respingos de nitrogênio líquido. Esses tipos de EPI estão disponíveis em plástico, na forma de propionatos, acetatos e policarbonatos simples ou revestidos com metais para a absorção de radiações infravermelhas[1,2,4,5,16].



Figura 1. Exemplo do uso do protetor facial com proteção aos raios UV.



Figura 2. Exemplo do uso do protetor facial para respingos de nitrogênio líquido.

Óculos de segurança

Os óculos de proteção ou de segurança protegem os olhos contra riscos de impactos, produtos químicos ou radiações. Precisam ser de boa qualidade, a fim de proporcionar ao usuário visão transparente, sem distorções e opacidade (Figura 3). Para atividades que envolvam o uso de luz ultravioleta, é necessária, além dos óculos especiais, a proteção de toda a face[2,4,5,16].



Figura 3. Exemplo de óculos de segurança.



Figura 5. Exemplo do uso da máscara com filtro contra vapores orgânicos.

Protetores respiratórios

Os protetores ou as máscaras respiratórias contêm filtros que protegem o aparelho respiratório. Os filtros podem ser: (a) mecânicos para proteção contra partículas suspensas no ar (Figura 4); (b) químicos, que protegem contra gases e vapores orgânicos (Figura 5); e (c) combinados (mecânicos e químicos). Esses protetores respiratórios são necessários para o manuseio de gases irritantes, como cloreto de hidrogênio, dióxido de enxofre, amônia e formaldeído, os quais produzem inflamação ao entrarem em contato com os tecidos. Também se deve usar a máscara no caso de gases anestésicos, como éter e grande parte de solventes orgânicos.

Os filtros dos protetores respiratórios têm indicação de uso representada por cores, como descrito no Quadro 1.

Existem dois tipos de máscaras respiratórias para uso em condições de concentrações diferentes: semifaciais e de proteção total. As semifaciais são recomendadas para casos em que a concentração dos vapores tóxicos não ultrapasse dez vezes o limite de exposição, devendo ser acompanhadas do uso de óculos de proteção (Figura 5). As máscaras respiratórias de proteção total da face são utilizadas para ambientes em que a concentração pode atingir até cinquenta vezes o limite de exposição (Figura 6). As máscaras de proteção total da face são utilizadas com sistema de ar autônomo (Figura 7) em situações de emergência[2,5].

Quando a atividade laboratorial envolver reações a altas temperaturas, com risco de rompimento da vidraria ou explosões, o protetor respiratório deve ter resistência química e seu visor deve proteger contra impactos e respingos. Situações como essas podem ocorrer em processos de síntese química etc.

As máscaras semifaciais descartáveis são bem mais leves e confortáveis (Figura 8), tendo a vantagem de dispensar a limpeza diária e a manutenção. Elas podem ter válvula para exalação de ar, para que não fiquem saturadas de umidade proveniente da respiração. Os tipos mais simples destinam-se exclusivamente a reter poeiras[2,5].

Quadro 1. Filtros para proteção respiratória[2,4,5,16]

Cor do filtro	Indicação de uso
Branco	Gases e ácidos
Amarelo	Vapores orgânicos e gases ácidos
Verde	Amônia
Marrom	Vapores orgânicos, gases ácidos e amônia
Vermelho	Universal (gases industriais, monóxido de carbono, fumo e fumaças)
Branco com listras verdes	Vapores de ácido clorídrico
Branco com listras amarelas	Cloro
Azul	Monóxido de carbono

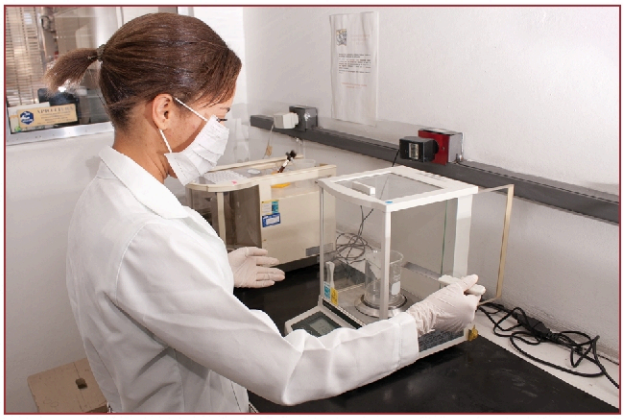


Figura 4. Exemplo do uso da máscara descartável com proteção contra partículas suspensas no ar.



Figura 6. Exemplo do uso da máscara de proteção total da face.



Figura 7. Exemplo do uso da máscara de proteção total da face com sistema de ar autônomo.



Figura 8. Máscaras semifaciais descartável e tradicional.

Proteção auricular

A proteção auricular visa proteger os ouvidos contra níveis elevados de ruído, que são regidos pela norma brasileira (NBR) n. 10.152[17], que estabelece limite de 60 decibéis para uma condição de conforto durante a jornada de trabalho. Um exemplo seria o uso de capelas mal projetadas em que o sistema de exaustão provoca um nível de ruído acima do normal, frequentemente em virtude de problemas com dimensões de dutos que provocam uma velocidade de ar excessiva. Os protetores auriculares podem ser do tipo concha, com protetores externos ou de inserção, e/ou descartáveis[2,4,5].

Em relação às normas internacionais, o nível de ruído permitido pela OSHA é de 85 decibéis por um período de oito horas[18].

PROTETORES PARA O TRONCO

O EPI mais comum em laboratórios é o avental. Ele protege as roupas contra borrifos químicos ou biológicos e ainda fornece proteção adicional ao corpo[1].

Os aventais devem ser o menos inflamável possível, pois sempre existe o risco de incêndio em um laboratório. Materiais que contenham a mistura poliéster-algodão são inflamáveis e derretem sobre a pele quando em contato com uma fonte de calor ou algum agente corrosivo. A melhor opção são aventais de algodão puro, um material não reativo a produtos químicos e menos inflamável. Eles devem, de preferência, cobrir completamente as vestimentas, ser desprovidos de bolso e ter mangas compridas[1].

Os protetores para o tronco são utilizados quando há risco de projeção de partículas, calor radiante, chamas, respingos de produtos químicos etc.[2,4,5,16]

No Quadro 2, são apresentados os tipos de aventais utilizados em diferentes condições.

Quadro 2. Tipos de aventais usados em laboratório

Tipos de aventais	Finalidade
Cloreto de polivinila (PVC)	Quando há riscos de respingos de produtos químicos
Kevler	Utilizados em locais em que o calor é excessivo, como em alguns trabalhos de laboratório
Borracha	Protegem o corpo durante o manuseio de grandes volumes de soluções ou quando o trabalho a ser executado é reconhecidamente perigoso. Para o pessoal responsável por lavagem e limpeza de vidrarias e equipamentos, os aventais são de uso obrigatório

PROTEÇÃO DOS MEMBROS SUPERIORES (MÃOS E BRAÇOS)

Os EPI utilizados para a proteção dos membros superiores (mãos e braços) atuam contra riscos biológicos, queimaduras químicas, calor ou frio excessivo, mordidas, cortes, choques elétricos e outros riscos físicos. Nesses casos, devem ser utilizadas luvas, mangas e cremes protetores[1,4,7].

As luvas também fornecem elevado grau de proteção contra dermatites, pois a exposição repetida a pequenas concentrações de inúmeros compostos químicos eventualmente cria reações adversas na pele dos operadores[1]. Uma das principais fontes de acidentes em laboratórios são as operações manuais, que muitas vezes resultam em sérios acidentes com ferimentos em operadores[2,5].

As principais operações que requerem o uso de luvas de proteção são:

a. manuseio de solventes e reagentes químicos;
b. manipulação de culturas microbianas e seus metabólitos;
c. operação com vidrarias;
d. montagem de equipamentos;
e. manuseio de produtos químicos;
f. operações com fornos e muflas (Figura 9);
g. operações criogênicas;
h. manuseio de materiais biológicos, sangue, tecidos infectados;
i. operação com animais;
j. manipulação de ferramentas e lâminas metálicas[1,2,5].

As luvas cirúrgicas são frequentemente utilizadas em laboratórios de microbiologia. Entre suas aplicações, podemos destacar a prevenção contra contato com materiais biológicos[1] (Figura 10).

As luvas de proteção precisam ser de material resistente, ter baixa permeabilidade e boa flexibilidade, além de compatíveis com as substâncias que serão manuseadas. Para os trabalhos que geram calor, recomenda-se o uso de luvas de pano resistentes ou revestidas de material isolante ao calor. Materiais de luvas recomendados para o manuseio de substâncias químicas são: borracha natural, neoprene, cloreto de polivinila (PVC), acetato de polivinila (PVA) e borracha butadieno. A escolha deverá ser feita conforme o tipo de substância química a ser utilizada[1,2,5].

Para o manuseio a altas temperaturas, estão proibidas as luvas de amianto, que podem causar asbestose (uma doença pulmonar muito grave). Os materiais alternativos ao amianto seriam do tipo Zetex ou Kevlar, que é constituído por fibras de aramida associadas a fibras de grafatex, formando um tecido atóxico que resiste a altas temperaturas de até 800°C[1] (Figura 9).

No Quadro 3, são apresentados os principais materiais de confecção das luvas[1,4,5].

PROTEÇÃO DOS MEMBROS INFERIORES (PÉS E PERNAS)

Pés desprotegidos (sandálias) ou pouco protegidos (sapatos de pano) acarretam problemas sérios e podem gerar situações perigosas. O sapato deverá ser compatível com o tipo de atividade desenvolvida.

As botas de segurança protegem os pés e as pernas de impactos, perfurações, queimaduras, choques, substâncias químicas, calor e frio, perigos elétricos, impactos de objetos pesados etc. Elas podem ter o cano alto, chegando até a altura dos joelhos, e devem ser resistentes à ação de ácidos e bases fortes, permitindo a proteção dos membros inferiores contra borrifos desses reagentes e de materiais que causem queimaduras[1,2,5,16].



Figura 9. Exemplo do uso da luva de proteção em operação com mufla.



Figura 10. Exemplo do uso das luvas cirúrgicas em laboratório de biossegurança (cabine de biossegurança nível 1).

Quadro 3. Tipos de luvas como EPI

Material	Finalidade
Couro	Material natural, com tratamento especial, adquire alta resistência mecânica, sendo ideal para operações de montagem, manutenções e manuseio de equipamentos
Borracha natural	Material com boa elasticidade e boa resistência a sais, álcalis, ácidos e cetonas. É muito utilizada em laboratórios clínicos, indústrias farmacêuticas e alimentícias. Apresenta boa resistência aos solventes normalmente manipulados nos laboratórios
Borracha nitrílica	Material sintético de alta resistência à abrasão e boa resistência aos agentes químicos. É empregada em laboratórios químicos e clínicos
PVC	Material sintético resistente a álcool e ácidos, mas com baixa resistência a solventes orgânicos. É recomendada para trabalhos com líquidos ou produtos químicos que exijam melhor aderência no manuseio, na lavagem de material, no manuseio de ácidos, óleos etc. É utilizada no processamento de alimentos e na manufatura de produtos farmacêuticos
Borracha neoprene	Material sintético com boa resistência a óleos minerais, ácidos, álcalis, álcoois e solventes orgânicos. Como exemplo, podemos citar o manuseio de ácidos em laboratórios físico-químicos

As botas de borracha são indicadas para quem trabalha em áreas úmidas e com serviços de limpeza (Figura 11). Em algumas situações emergenciais, como o derramamento de líquidos ou qualquer material perigoso, é importante que o responsável pela tarefa de limpeza esteja com os pés devidamente protegidos. Um exemplo seria o manuseio de nitrogênio líquido (Figura 2).

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA

Os EPC são equipamentos de uso no laboratório que, quando bem especificados para as finalidades a que se destinam, permitem executar operações em condições de salubridade para o operador e as demais pessoas no laboratório. São utilizados, portanto, para minimizar a exposição dos trabalhadores aos riscos e, em caso de acidentes, reduzir suas consequências. Tais equipamentos permitem ainda eliminar ou reduzir o uso de alguns EPI[2,5,19,20].

As capelas de segurança química são os melhores exemplos desses equipamentos, podendo ser de uso geral, capelas tipo *walk in*, capelas com sistema de lavagem de gases e cabines de segurança biológica (CSB). Elas têm por finalidade retirar do ambiente do laboratório os gases tóxicos e/ou corrosivos.

Cabine de segurança de uso geral

A cabine de segurança de uso geral, também chamada de capela, é um EPC indispensável em qualquer laboratório (Figura 12). Elas devem obedecer a critérios de construção, levando-se em conta o tipo de trabalho e a quantidade de operadores que as usarão. A velocidade de exaustão da capela é um item importantíssimo e deve ser verificada periodicamente, utilizando-se um anemômetro, e expressa em metros/segundo. Essas capelas podem ser usadas para os diversos tipos de análise que incluam o manuseio de substâncias químicas e/ou particuladas, devendo a velocidade do ar no interior da



Figura 11. Uso das botas de borracha no serviço de lavagem de materiais laboratoriais.



Figura 12. Exemplo de cabine de segurança química.

capela ser de 0,5 m/s, com a janela da capela totalmente aberta.

A cabine de segurança de uso geral deve ter uma construção robusta com revestimento interno resistente aos produtos com os quais se vai operar. Deve possuir janelas em número e tamanho adequados ao número de operadores e ao tipo de operação a que se destina a capela. Tem de ser dotada de sistema de exaustão com potência suficiente para promover a exaustão dos gases leves que, rapidamente, ocupam as camadas superiores e dos gases pesados (enxofre e alguns solventes) que tendem a permanecer nas partes baixas da capela. O nível de ruído não pode exceder a 70 decibéis e deve possuir iluminação adequada (mínimo de 300 lux).

Esse tipo de cabine tem de possuir equipamentos elétricos e interruptores à prova de explosão, quando for utilizada para manuseio de produtos inflamáveis e/ou explosivos. A vazão da cabine deve ser de 40 m^3/min[1,5,20].

Cabine de segurança tipo *walk in*

É uma capela especial sem bancada tradicional, com sua base rebaixada até quase o nível do piso. Dessa forma, o operador pode entrar na capela e efetuar, por exemplo, a montagem de aparelhagens de grandes dimensões[5,20].

Cabine de segurança com sistema de lavagem de gases

Especialmente projetada para a atividade que envolve o manuseio de substâncias químicas que formam produtos de reação explosivos ou corrosivos, essa capela é acoplada a um sistema de lavagem de gases, que retém esses produtos químicos, para que, posteriormente, sejam descartados de forma adequada. Ela é empregada no manuseio de ácido nítrico e ácido perclórico.

Esse tipo de cabine deve ser revestido internamente com aço inoxidável e possuir sistema hidráulico para lavagem e diluição dos gases gerados, promovendo a dissolução ou a remoção de vapores dos ácidos, evitando, assim, o contato com os dutos e a dispersão na atmosfera.

Alguns cuidados precisam ser tomados na operação dessas cabines, como a verificação diária dos sistemas de exaustão e iluminação. As paredes da capela têm de ser lavadas após cada dia de uso.

A cabine de segurança deve ser conservada sempre limpa e vazia quando não estiver em uso. Ao utilizá-la, todos os materiais desnecessários à execução da análise têm de ser retirados. Durante a análise, as janelas devem estar com a menor abertura possível e quaisquer respingos de ácidos precisam ser lavados.

Após o término da análise, deve-se remover todo o material, lavando-o, e manter a exaustão ligada e as torneiras de lavagem parcialmente abertas por, no mínimo, três minutos. Após esse período, abrir totalmente as torneiras, mantendo a exaustão por mais três minutos, com posterior desligamento do exaustor e fechamento das torneiras[5,20].

Cabine de segurança biológica

É também denominada cabine de fluxo laminar (Figura 13), sendo necessária porque a maioria das técnicas microbiológicas produz aerossóis passíveis de serem inalados.

As CSB são o principal EPC utilizado para proteger contra aerossóis que contêm agentes infecciosos originados de vários procedimentos microbiológicos, para limitar a exposição do laboratorista e do ambiente, e ainda, para proteger o experimento de contaminações originadas do ar. São também cabines especiais destinadas a trabalhos com produtos biológicos em condições absolutamente estéreis e trabalhos com ausência de partículas em suspensão no ar.

A CSB é um sistema eletromecânico em que uma massa de ar ultrafiltrada, por meio de filtros absolutos *high efficiency particulate air* (HEPA), move-se em sentido unidirecional, a baixas velocidades, criando um ambiente estéril e removendo a contaminação gerada no ambiente. O ar é aspirado do ambiente pelos pré-filtros, passando depois, por um sistema de filtros, que proporciona um elevado grau de pureza na área de trabalho, a qual fica continuamente limpa por um fluxo de ar que remove eventuais contaminações. O fluxo de ar limpo remove também partículas originadas da área de trabalho. Dentro da área de trabalho, é gerada uma pressão, evitando que contaminações externas tenham acesso a essa área[1].



Figura 13. Exemplo de cabine de segurança biológica nível 2.

Essas cabines de segurança podem ter fluxo horizontal ou vertical, em que o ar passa por um sistema de filtros de alta eficiência, com remoção de até 99,9% de partículas com tamanho de 0,3 µ, aerossóis, pó tóxico e bactérias, garantindo a pureza do ar[5,20].

CSB com fluxo horizontal

É usada para trabalhar com produtos estéreis não patogênicos. Pela trajetória do fluxo de ar, o ar ambiental não entra em contato com as amostras e o operador recebe o fluxo de ar já filtrado, que vem de dentro da capela, impulsionado na direção horizontal[5,20].

CSB com fluxo de ar vertical

Destina-se a trabalhos com amostras ou produtos patogênicos, em que há necessidade de absoluta segurança para o operador. Nesse sistema, o ar já filtrado (filtro absoluto), livre de partículas ou microrganismos de até 0,2 µm de diâmetro, atinge a amostra na direção vertical, sendo aspirado para dentro da cabine e, depois, passando por uma nova filtração antes de sair para o ambiente. Nesse tipo de cabine, a cortina frontal de ar cria uma barreira que isola o interior da área externa. Exemplos de utilização dessa cabine são as análises clínicas e microbiológicas, a manipulação de meios de cultura, a cultura de tecidos, o preparo de soluções parenterais, o fracionamento de sangue etc.[1,5,20].

Existem três classes de cabine de segurança biológica (I, II e III). As cabines classes I e II oferecem significativo nível de proteção, tanto do pessoal do laboratório como do ambiente, quando usadas em conjunto com as boas práticas microbiológicas[21].

As cabines classe I podem apresentar-se com a janela frontal totalmente aberta, ou ainda possuir um painel frontal munido de luvas de borracha de cano longo, introduzindo e removendo os materiais pela abertura do painel. O ar flui pelo espaço de trabalho e atravessa um sistema de filtros HEPA, que sai para um duto que se comunica com o sistema de exaustão do prédio.

A proteção das cabines classe I pode estar comprometida no caso de movimento súbito das mãos, abertura e fechamento brusco de portas ou movimentos rápidos de pessoas em frente à cabine. Quando a cabine não oferecer a proteção necessária às mãos e aos braços, torna-se necessário o uso de luvas de cano longo e aventais de manga comprida pelo operador.

As cabines classe II utilizam fluxo de ar laminar com uma abertura frontal para o acesso à área de trabalho e para a introdução e a remoção de materiais. Uma cortina de ar impede que as contaminações originadas do ar ambiental tenham acesso à área de trabalho.

As cabines de segurança da classe III são usadas em situações em que haja alto grau de risco, necessitando-se de cabines com pressão negativa e cujo trabalho deve ser realizado por meio de aberturas com luvas de borracha, garantindo um perfeito isolamento do material manipulado. Essas capelas são de todo fechadas, isolando completamente o operador do material utilizado por ele, e são construídas à prova de gás. As operações são realizadas com luvas, as quais o operador utiliza no manuseio do material. Durante o uso, a cabine é mantida sob pressão negativa e tanto o ar que entra como o que sai são filtrados. Os materiais entram e saem por uma entrada asséptica. A proteção desse tipo de cabine pode ser comprometida no caso de perfuração das luvas, com o favorecimento para condições de pressão positiva (Figura 14).

Há também o gabinete para radioisótopos, construído em chapa de aço inoxidável com lençol de chumbo para a proteção contra a radiação. O dreno e o sifão são conectados a reservatórios para a coleta de rejeitos radioativos, que precisam de tratamento especial[16].



Figura 14. Exemplo de cabine de segurança biológica nível 3.



Figura 15. Exemplo de sistema de exaustão de gases em laboratório.

Existem ainda os sistemas de exaustão de gases que se destinam a captar os vapores, as névoas, os fumos e os pós. Eles podem estar localizados em cima de pias, cubas, equipamentos ou bancadas inteiras[5,22] (Figura 15).

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL PARA ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

Segundo a Instrução Normativa n. 7[23], que determina as normas para o trabalho em contenção com microrganismos que podem ser ou não OGM, são definidos quatro níveis de risco e, respectivamente, quatro níveis de biossegurança.

Para o nível de biossegurança 1 (NB-1), ou seja, trabalho que envolve agentes com menor grau de risco para o pessoal do laboratório e para o meio ambiente, é recomendado o uso de dispositivo mecânico para pipetagem, pois é impróprio e arriscado pipetar com a boca. Aconselha-se, ainda, a utilização de roupas para proteção, como uniformes e aventais.

Para o nível de biossegurança 2 (NB-2), que envolve agentes de risco moderado para as pessoas e para o meio ambiente, indicam-se o uso de CSB (Figura 16) e o emprego de roupas apropriadas, como aventais, gorros e máscaras.

Para o nível de biossegurança 3 (NB-3), aplicável aos locais nos quais são manuseados agentes infecciosos de classe de risco 3, que possam causar doenças sérias e potencialmente letais, como resultado de exposição por inalação, aconselha-se que todos os procedimentos que envolvam a manipulação de materiais infecciosos sejam conduzidos dentro de CSB ou outro dispositivo de contenção física e os laboratoristas usem EPI. Além do uniforme, são recomendadas máscaras faciais apropriadas ou respiradores.

Para o nível de biossegurança 4 (NB-4), que envolve o manuseio de microrganismos classificados como classe de risco 4 ou organismo receptor, parenteral ou doador com potencial patogênico desconhecido, recomenda-se o uso de roupa protetora completa e descartável. O manuseio de agentes de classe de risco 4, conduzido em laboratórios, deve ser realizado em CSB classe I, II ou III, associada a roupas de proteção pessoal com pressão positiva, ventilada por sistema de suporte de vida. O sistema deve prever alarmes e tanques de respiração de emergência.

Os pipetadores mecânicos e automáticos são obrigatórios para a redução de riscos de infecção e contaminação dos laboratoristas, sendo necessárias técnicas seguras para pipetagem. Riscos adicionais de exposição aos aerossóis são criados pelo gotejamento de líquido da pipeta na superfície de trabalho, pela agitação causada por sucção e sopros alternados e pelos sopros em placas de Petri. O borbulhamento e a formação de espumas ocorrem em conexão com a pipetagem, ocasionando borrifos e aerossóis.

EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA

Os equipamentos de segurança imprescindíveis a todos os laboratórios são os chuveiros de emergência e o lavador de olhos (Figura 17). Eles devem ser instalados em locais estratégicos para permitir fácil e rápido acesso de qualquer ponto do laboratório e seguir a norma ANSI Z-358.1-2009[24]. Recomenda-se fazer um teste de funcionamento pelo menos uma vez por semana[5,20,22].

Os chuveiros de emergência têm um formato especial para fornecer uma ducha de água com um grande ângulo de abertura, com a finalidade de atingir totalmente a pessoa que se acidentou com espirros de líquidos corrosivos e/ou inflamáveis. Eles devem ter uma alça de acionamento ao alcance de operadores de



Figura 16. Exemplo do uso da cabine de segurança biológica nível 2.



Figura 17. Exemplo de chuveiro de emergência e lava-olhos.

estatura baixa. Tanto o chuveiro quanto a área adjacente terão de estar desimpedidos e prontos para utilização a qualquer momento[5,20,22].

Os lavadores de olhos devem ter o dispositivo de fácil acionamento e suficientemente grande, porque o acidentado estará com a visão impedida, total ou parcialmente. O jato de água precisa ser filtrado para evitar que partículas sólidas saiam com a água. O acionamento pode ser realizado mecanicamente, com a mão ou o pé. Nesses equipamentos, em geral, é utilizada uma pressão de 30 psi. Uma pressão de água que exceda 80 psi poderá danificar o tecido sensível da vista, devendo, no caso de ser excedida tal pressão, ser utilizado um redutor. Há também um lava-olhos de acionamento por raios infravermelho, que tem a vantagem de eliminar a contaminação que pode acontecer nos outros sistemas[1,7,20,22].

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO CONTRA INCÊNDIOS

Incêndio é um processo no qual se desenvolve uma reação de combustão, a qual para se iniciar e propagar necessita de três componentes: energia ou calor, combustível e comburente. Comburente é o elemento ativador do fogo e o comburente natural do ambiente é o oxigênio do ar. Combustível é o elemento que serve de campo de propagação do fogo, compreendendo praticamente todos os materiais que nos cercam. Madeira, tecidos e produtos químicos inflamáveis, como os solventes, são exemplos de combustíveis[1,4,5].

Um EPC útil no caso de incêndios é a manta corta-fogo. Ela é usada quando o incêndio se estende às roupas do operador. A extinção do fogo ocorre por abafamento. As mantas devem ser de tecidos não combustíveis e estar em local de fácil acesso[5,20,22].

Todo laboratório deve ter, por escrito, um plano de emergência para combate a incêndios e as instruções para evacuação do prédio. Pequenos incêndios em bancadas são emergências comuns e, na maioria das vezes, podem ser extintos pelas pessoas que trabalham no próprio laboratório. Porém, em uma situação de incêndio, deve-se pedir ajuda ao grupo responsável pelo combate ao fogo, ao mesmo tempo em que se tenta extingui-lo. Qualquer incêndio, mesmo pequeno, pode alastrar-se com uma rapidez inesperada. É preciso lembrar que o incêndio acontece onde a prevenção é falha e o ideal é realizar um bom trabalho de prevenção contra incêndio, evitando-se, assim, o começo do fogo[1,4].

As medidas imediatas que devem ser tomadas consistem no uso de mantas contra fogo ou de extintores adequados, sempre se lembrando da possibilidade de evacuar o prédio. Todos os funcionários do laboratório devem conhecer o plano de combate ao fogo e de evacuações de emergência, assim como passar por treinamento pelo menos duas vezes ao ano[1].

Os equipamentos de segurança requerem verificações regulares para assegurar que estejam em locais apropriados e funcionem adequadamente[1].

Classificação dos tipos de incêndios

Os incêndios são classificados de acordo com as características de seus combustíveis. Somente com o conhecimento da natureza do material que está queimando é possível descobrir o melhor método para uma extinção rápida e segura[1,4].

Classe A

São os incêndios com implicação de materiais sólidos inflamáveis, de fácil combustão, com a propriedade de queimarem em superfície e profundidade e de deixarem resíduos. São alguns exemplos: madeira, papelão, papéis, tecidos etc. Nesses casos, deve-se usar um agente extintor que tenha poder de penetração, eliminando o calor existente. Recomenda-se utilizar água e espuma para combater o fogo. Se ele estiver no início, podem-se utilizar pós químicos secos ou gás carbônico.

Classe B

São os incêndios que acontecem nos materiais gasosos e líquidos inflamáveis, produtos que queimam somente na superfície e não deixam resíduos, como vernizes e líquidos inflamáveis (álcoois, cetonas e derivados do petróleo). O controle pode ser feito por abafamento, gás carbônico, pó químico e espuma.

Classe C

São os incêndios que ocorrem nos materiais energizados, pelos quais passa corrente elétrica. Acontecem em equipamentos elétricos energizados, como motores, transformadores, quadros de distribuição etc. Para o controle desse tipo de incêndio, recomendam-se os extintores que não conduzam corrente elétrica, como o de gás carbônico e o de pó químico seco. É importante que não se utilize qualquer extintor à base de água, pois ela é condutora de eletricidade e coloca em risco a vida do operador. Com a corrente desligada, o combate a esse tipo de incêndio é realizado como se fosse da classe A ou B.

Classe D

São os incêndios que ocorrem nos elementos que se inflamam espontaneamente (pirofóricos), como mag-

nésio, zircônio, titânio, pó de alumínio, urânio etc. Os agentes extintores que atuam nesses materiais são agentes especiais, que isolam do ar o metal combustível, interrompendo a combustão como areia e limalha de ferro. Pode-se, também, combater esse tipo de incêndio por abafamento com pó químico especial.

Métodos de extinção do fogo

Resfriamento

Quando se reduz o calor gerado pela combustão. É um dos métodos mais eficientes de extinção de incêndio, pois ocorre a diminuição da temperatura até o ponto em que não ocorra desprendimento de gases ou vapores quentes. A água é um dos mais eficientes agentes de resfriamento[4].

Isolamento

Quando se isola o material (combustível) que poderia ser atingido pelo fogo, evitando a sua propagação para outras áreas.

Abafamento

Quando se retira o comburente (oxigênio), abaixando os níveis de oxigenação da combustão. Quando a porcentagem é limitada ou reduzida a 15%, o fogo deixa de existir. O oxigênio é encontrado na atmosfera na proporção de 21%.

Para utilzação desses métodos, pode-se dispor de extintores portáteis, carretas, hidrantes e dispositivos especiais (Figura 18). Os extintores devem estar visíveis e bem localizados, livres de qualquer obstáculo que possa dificultar o acesso até eles (desobstruídos) e devidamente sinalizados[4].



Figura 18. Exemplo de extintor de incêndio e hidrante.

Para prevenir ou extinguir um incêndio, devemos utilizar os extintores de incêndio portáteis, que são os aparelhos de mais fácil e rápida utilização. Eles podem atuar por resfriamento (extintores de água) ou eliminação do oxigênio de contato com o combustível (extintores de CO_2 ou espuma)[4,5].

Principais tipos de extintores de incêndio

Extintor de água pressurizada

Age por resfriamento e é indicado para incêndios da classe A, por penetrar nas profundidades do material, resfriando-o. Não pode ser utilizado em líquidos inflamáveis e equipamentos elétricos. Tem a desvantagem, em alguns casos, de danificar o material que atinge. Nesse extintor, a água é acondicionada em cilindro metálico, o qual possui um gatilho para controle do jato, bem como um dispositivo para dirigi-lo e um manômetro que indica a pressão em que se encontra o líquido em seu interior. Deve ser inspecionado a cada seis meses, para verificar a pressão indicada no manômetro.

Modo de usar:

- leve sempre o extintor ao local do fogo;
- coloque-se, com o extintor, a uma distância segura do local do fogo;
- retire a trava de segurança, aperte a alavanca e empunhe a mangueira;
- dirija o jato para a base das chamas. Caso queira estancar o jato, basta soltar a alavanca.

Extintor de espuma química

Age tanto por resfriamento (indicado para incêndios da classe A) quanto por abafamento (indicado para incêndios da classe B). Não pode ser utilizado em incêndios da classe C (equipamentos energizados) e tem a desvantagem de danificar o material que atinge. Sua carga é composta de bicarbonato de sódio (agente estabilizador) misturado com água, no cilindro externo, e sulfato de alumínio dissolvido em água, no cilindro interno.

Modo de usar:

- Leve o extintor até o local do fogo, sem o inverter;
- Inverta o extintor somente quando chegar ao local do fogo, direcionando a válvula para a base das chamas;
- A espuma flutua na maioria dos combustíveis líquidos; por isso, quando se tratar de recipiente com líquido inflamável ou combustível, dirija o jato contra um anteparo. Assim, a espuma vai chocar-se contra

ele, escorrer e flutuar sobre o líquido em chamas, abafando-o. O jato disparado só estanca quando esgotada a carga.

Esse tipo de extintor, embora esteja em desuso no mercado, ainda é possível de ser encontrado, porém é considerado obsoleto e de baixa eficiência, tendo sido substituído pelo extintor de espuma mecânica.

Extintor de pó químico seco

Atua por abafamento e sua ação consiste na formação de uma nuvem sobre a superfície em chamas, reduzindo a porcentagem de oxigênio disponível. É carregado com bicarbonato de sódio e monofosfato de amônia. É indicado para as três classes de incêndio, embora sejam mais eficientes nas classes B (líquidos inflamáveis) e C (equipamentos elétricos energizados). É corrosivo, ou seja, danifica o material que atinge, não devendo ser empregado em aparelhos elétricos delicados (computadores). Por ser tóxico, tem de ser evitado em locais fechados. Esse extintor pode ser de pressão injetada ou pressurizado internamente.

Modo de usar:

- Leve o extintor ao local do fogo;
- Se o extintor for do tipo pressurizado, retire o pino de segurança;
- Se for do tipo pressão injetada, abra primeiramente o cilindro lateral que contém a pressão a ser injetada, segurando a mangueira com a válvula acionada, para evitar seu entupimento e um possível acidente;
- Aperte o gatilho e dirija o pó, procurando cobrir o fogo, principalmente se for da classe B.

Extintor de espuma mecânica

Age tanto por resfriamento (indicado para incêndios da classe A – materiais sólidos inflamáveis) como por abafamento (sugerido para incêndios da classe B – líquidos inflamáveis). Forma uma película aquosa sobre a superfície, impedindo a reignição. Não deve ser utilizado em incêndios da classe C (equipamentos energizados). Sua carga é composta por água, gás (N_2 ou CO_2) e filme aquoso formador de espuma (AFFF). Esse extintor pode ser de pressão injetada ou pressurizado internamente.

Modo de usar:

- Leve o extintor ao local do fogo;
- Se o extintor for do tipo pressurizado internamente, solte a trava e aperte a alavanca da válvula superior para controlar a saída do jato;
- Se for do tipo pressão injetada, abra primeiramente o cilindro lateral que contém a pressão a ser injetada, segurando a mangueira para evitar um possível acidente;
- Aperte o gatilho e dirija a espuma, procurando cobrir o fogo.

Extintor de CO_2

Age por abafamento, expelindo CO_2 e reduzindo a concentração de oxigênio do ar. O CO_2 é mais pesado que o ar (por isso desce sobre as chamas). É inodoro, incolor e não conduz eletricidade. Recobre o material em chamas com uma camada gasosa, isolando o oxigênio e extinguindo o incêndio por abafamento. É indicado para os incêndios da classe B (líquidos inflamáveis) ou da classe C (equipamentos elétricos energizados), podendo ser usado nos da classe A com ação positiva. Tem a vantagem de nunca estragar o material que atinge, podendo ser empregado em aparelhos delicados (computadores), sem danificá-los. O extintor de CO_2 não deve ser usado em materiais leves e soltos, pois sob pressão poderá espalhar o material em chamas, facilitando a propagação delas. Também não deve ser instalado em ambientes em que a temperatura possa atingir mais de 50°C, pois sua válvula de segurança poderá romper-se, permitindo a saída de gás. Em recintos pequenos e fechados, pode acontecer a reação do CO_2 com o oxigênio, tornando o ambiente asfixiante.

Modo de usar:

- Tire o pino de segurança, quebrando o arame do selo do lacre;

Quadro 4. Guia para usar o extintor de incêndio correto

	Classes de fogo		
	A	B	C
Tipo de extintor	Materiais sólidos	Líquidos, gases inflamáveis	Equipamentos elétricos
Espuma	Adequado	Adequado	Inadequado
Água pressurizada	Adequado	Inadequado	Inadequado
Pó químico "BC"	Inadequado	Adequado	Adequado
Pó químico "ABC"	Adequado	Adequado	Adequado
CO_2 (dióxido de carbono)	Inadequado	Adequado	Adequado

- Retire o esguicho (difusor) do seu suporte, embrulhando-o com uma das mãos na manopla;
- Com o extintor posicionado, acione a válvula com uma mão e, com a outra, dirija o jato para a base do fogo, movimentando o difusor.

O Quadro 4 apresenta um guia para o uso do extintor certo.

Extintor de carreta

É um extintor de grande volume. Para facilitar seu transporte, é operado por dois elementos.

Hidrante

Dispositivo existente em redes hidráulicas, que facilita o combate ao fogo. É composto por um reservatório (elevado ou subterrâneo) e um conjunto de canalização, mangueira e abrigo (Figura 18).

Dispositivos especiais (*sprinklers*)

São também conhecidos como chuveiros *sprinklers*. Esse sistema consiste na distribuição de encanamentos ligados a um encanamento central, do qual saem ramificações de tubos cujos diâmetros diminuem à medida que se afastam da linha principal. Nessas ramificações, são instalados bicos, que são peças dotadas de dispositivo sensível à elevação de temperatura e destinadas a aspergir água sobre a área incendiada, quando acionada pelo aumento da temperatura ambiente[4].

Fontes causadoras de incêndios no laboratório

- Equipamentos elétricos mal conservados, mal operados ou conectados em rede elétrica errada.
- Sobrecarga da rede elétrica por conectar vários aparelhos em uma única tomada ou usar aparelho de alto consumo de energia, em locais em que a fiação não suporte a amperagem.
- Operação indevida com líquidos inflamáveis.
- Vazamentos de gases inflamáveis dos cilindros de gás ou nas tubulações.
- Estocagem de líquidos inflamáveis e voláteis em refrigeradores domésticos (cujo sistema elétrico de partida produza faíscas)[1,4,5].

Cuidados para evitar incêndios em laboratórios

- Não aquecer líquidos inflamáveis no bico de Bunsen.
- Antes de acender o bico de Bunsen, assegurar-se de que não está vazando gás, colocando os recipientes que contêm líquidos inflamáveis a uma distância de três metros no mínimo.
- Não conectar vários aparelhos na mesma tomada.
- Verificar se a fiação está adequada para suportar altas temperaturas no caso de fornos, muflas, estufas, chapas aquecedoras etc.
- Não armazenar líquidos inflamáveis em refrigeradores domésticos. Existem refrigeradores à prova de explosão.
- Realizar trabalhos com líquidos inflamáveis voláteis em capelas com sistema elétrico à prova de explosão.
- Aquecer os líquidos inflamáveis em banho de água ou em balões com mantas aquecedoras em perfeito estado de conservação.
- Em salas de recuperação de solventes muito voláteis, nunca usar o fogo, devendo os equipamentos e as tomadas elétricas ser à prova de explosão[5].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Profiqua. Boas práticas para laboratório: segurança. São Paulo: Profiqua/SBCTA, 1995.
2. Almeida-Muradian LB. Equipamentos de biossegurança. In: Hirata M (org.). Manual de biossegurança. São Paulo: FCF/USP; 2000. p. 37-40,
3. Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998.
4. Cipa, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Manual de treinamento. São Paulo: FCF/USP; 1992.
5. Isolab. Segurança em laboratórios. São Paulo: FCF/USP; 1998.
6. Occupational Safery & Health Administration. Disponível em: http://www.osha.gov. Acesso: 11/11/2011.
7. Torreira RP. Manual de segurança industrial. São Paulo: Margus Publicações; 1999. p. 839-9281.
8. American Society of Testing Materials. Disponível em: http://www.astm.org. Acesso: 11/11/2011.
9. American National Standard Institute. Disponível em: http://www.ansi.org. Acesso: 11/11/2011.
10. Brasil. Lei n. 6.514, de 22 de dezembro de 1977. Seção IV, art. 166. Diário Oficial da União, Brasília (23/12/1977).
11. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Equipamento de proteção individual. Norma Regulamentadora n. 6 (NR-6, 2011) da Portaria n. 3.214, de 8 junho 1978. Disponível em: http://www.mtb.gov.br.
12. Brasil. Lei n. 8.974, de 5 de janeiro de 1995. Diário Oficial da União, Brasília (6/1/1995).
13. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Cadernos de biossegurança: legislação. Brasília: MCT; 2000.
14. Brasil. Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília (28/3/2005).
15. Comissão Técnica Nacional de Biosegurança (CTNBio). Disponível em: http://www.ctnbio.gov.br/ctnbio/legis. Acesso: 11/11/2011.
16. Carvalho PR. Boas práticas químicas em biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência, 1999. p. 16-26.
17. Associação Brasiliera de Normas Técnicas. Níveis de ruído para conforto acústico. NBR n. 10152:1987.
18. Crane JT, Richmond JY. Design of biomedical laboratory facilities. In: Fleming DO, Hunt DL, editors. Biological

safety principles and practices. 3. ed. Washington, DC: ASM Press; 2000.
19. Cardella B. Segurança no trabalho e prevenção de acidentes: uma abordagem holística. São Paulo: Atlas; 1999.
20. Cipa, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Curso de segursança em laboratório. São Paulo: FCF/USP; 2000.
21. Grist NR. Manual de biossegurança para o laboratório. São Paulo: Livraria Santos; 1995.
22. Azevedo JC, Cipa, USP, FCF. Manual de segurança em laboratório. São Paulo: FCF/USP; 2001.
23. Brasil. Instrução Normativa n. 7. Diário Oficial da União, Brasília (9/6/1997).
24. American National Standards Institute. Norma ANSI/ISEA Z-358.1-2009.

capítulo 4

Manuseio, controle e descarte de produtos biológicos

Elsa Masae Mamizuka
Mario Hiroyuki Hirata

INTRODUÇÃO

Os riscos biológicos são decorrentes da exposição a agentes dos reinos animal e vegetal e de microrganismos ou de seus subprodutos. Entre os agentes de risco biológico podemos citar como mais importantes: bactérias, fungos, rickétsias, vírus, protozoários, metazoários. Tais agentes podem estar presentes veiculados sob diversas formas que oferecem risco biológico, como aerossóis, poeira, alimentos, instrumentos de laboratório, água, cultura, amostras biológicas (sangue, urina, escarro, secreções), entre outros.

Para melhor entendimento e manipulação adequada de agentes infecciosos, segue-se a classificação de acordo com o grupo de risco, indicado no Quadro 1.

Na Portaria n. 178, de 4 de fevereiro de 2009, institui-se no âmbito da Comissão de Biossegurança em Saúde do Ministério da Saúde (CBS/MS), um Grupo de Trabalho para avaliação de Agentes Biológicos, e a sua classificação editando uma lista que foi aprovada pela Portaria n. 1.608, de 5 de julho de 2007[1]. Esta coordenação foi realizada pela Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) com representantes da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e por especialistas das áreas de bacteriologia, virologia, micologia e parasitologia.

Como se pode verificar, é necessário fazer uma avaliação cuidadosa dos agentes infecciosos para classificá-los e manuseá-los de forma adequada e segura, utilizando equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva (EPC). Portanto, os locais de trabalho devem ser classificados de acordo com o nível de segurança, com os respectivos instrumentos e ambientes de tra-

Quadro 1. Classificação de risco dos agentes infecciosos

Grupo 1	É constituído de microrganismos que provavelmente não provocam doenças no homem ou nos animais
Grupo 2	Inclui agentes patogênicos capazes de causar doenças em seres humanos ou animais. Porém, geralmente não apresentam perigo sério para os indivíduos do laboratório, para a comunidade, para os animais domésticos ou para o ambiente. A exposição em laboratório pode provocar infecção grave. No entanto, conhecem-se medidas profiláticas adequadas, e o risco de propagação é limitado ou reduzido. Para esse grupo, o risco individual é moderado, e baixo para a comunidade.
Grupo 3	É constituído de agentes patogênicos que costumam provocar doença grave em seres humanos ou animais, propagada de um hospedeiro infectado ao outro. Existem medidas profiláticas e de tratamento bem estabelecidas. É considerado de alto risco individual e de baixo risco para a comunidade
Grupo 4	Inclui agentes infecciosos patogênicos que geralmente causam doenças graves ao ser humano ou animais, podendo ser com facilidade transmitida entre os indivíduos, de forma direta ou indireta. Na maioria dos casos não se conhece tratamento eficaz e as medidas profiláticas não estão bem estabelecidas.

balho apropriados em termos de segurança biológica. O descarte desse material biológico também deve ser realizado de forma adequada, evitando-se contaminação local e do meio ambiente. As normas de segurança devem ser rigorosamente seguidas para propiciar melhor saúde a todos os envolvidos (Norma Regulamentadora, NR 32). A orientação correta poderá ser obtida em manuais de biossegurança ou com a Comissão de Biossegurança[2-4].

Segundo Pike[5], cerca de 18% dos trabalhadores podem sofrer algum tipo de contaminação no ambiente de trabalho por agentes infecciosos. Entre estes, 25% são por inoculação percutânea, 27% por *spray* e derramamento, 16% por acidentes com vidrarias e objetos cortantes, 13% por aspiração por instrumentos, 13,5% por acidentes com animais, lesões e contato com ectoparasitos. Em laboratórios que manipulam animais e trabalham com amostras clínicas é importante considerá-los fontes de contaminação muito importante.

RISCOS BIOLÓGICOS

As principais fontes de contaminação no local de trabalho podem estar relacionadas à inalação de aerossóis, pois todos os procedimentos microbiológicos são potenciais formadores destes. Na Tabela 1 são indicados alguns exemplos de procedimentos que ocasionam possivelmente formação de partículas que podem ser recuperadas de uma pequena distância da área de trabalho.

Na Tabela 2 são apresentados alguns microrganismos e a carga infectante relativa ao homem. Isso explica o motivo de a grande maioria dos funcionários, com os devidos cuidados, não adoecerem em decorrência de infecções pela manipulação de microrganismos. No entanto, observa-se que pequenas quantidades de determinados agentes (vírus do sarampo, C. *burnetti*, coxsackie) podem provocar infecção. Portanto, é de extrema importância trabalhar em condições de biossegurança, conhecendo os riscos e prevenindo-se contra eles.

CUIDADOS NO MANUSEIO DE MATERIAL BIOLÓGICO

Os principais agentes que podem causar infecção aos trabalhadores de laboratório de ensino e pesquisa, assim como em indústrias que manipulam organismos vivos para produção de medicamentos ou insumos, são apresentados de forma sucinta a seguir.

Tabela 1. Geração de aerossóis de culturas de *S. marcescences* durante procedimentos laboratoriais

Procedimento	N° de colônias viáveis	Diâmetro da partícula (mm)
Pipetagem	6,6	2,3 ± 1,0
Uso de agitador de tubos	9,4	4,8 ± 1,9
Uso de centrifuga (liq derramado)	1,9	4,0 ± 1,8
Uso de sonicador	6,3	4,8 ± 1,6
Abertura de frasco liofilizado	32,6	8,0 ± 3,4
Derramamento de frasco	1.551,0	3,5 ± 2,0

Fonte: Kenny e Sabel[6].

Tabela 2. Tipos de microrganismos, carga infectante e vias de contaminação humana

Microrganismo	Doença	Carga infectante	Via de contaminação
Plasmodium ssp	Malária	10	Intravenoso
Treponema pallidum	Sífilis	57	Intradérmico
Salmonella typhi	Febre tifoide	10^5	Ingestão
Vibrio cholera	Cólera	10^8	Ingestão
Escherichia coli	Diarreia	10^8	Ingestão
Shiguella ssp	Shiguelose	10^2	Ingestão
Vírus do sarampo	Sarampo	0,2	Inalação
Poliovírus	Poliomielite	2	Ingestão
Coxsackievírus A-21	Doença respiratória	≤18	Inalação
Vírus *Influenza* A2	Gripe	790	Inalação
Virus da encefalite	Encefalite	1	Subcutâneo

Fonte: Wedum et al.[7]

Infecção por contaminação bacteriana

O manuseio de agentes infecciosos no laboratório sempre é um fator de risco para o operador, principalmente os que trabalham com cultivo em grande escala para produção de vacinas ou antígenos para uso em diagnóstico. É importante observar as precauções referentes a cada agente e o risco na sua manipulação para que o trabalho seja executado dentro das normas de segurança requeridas.

Pode-se classificar as fontes de infecção no laboratório em dois tipos: o resultante da manipulação de um agente conhecido para o qual se sabem as medidas de precaução; e aquele em que não se sabem, particularmente quando se introduzem no laboratório agentes novos inesperados cujas medidas de proteção adequada não estão bem estabelecidas.

É necessário estabelecer, para qualquer tipo de fonte de risco, as precauções a serem tomadas, independentemente da classificação de risco, ao se trabalhar com amostras que tenham potencial risco biológico. Um dos grandes problemas encontrados no manuseio de agentes infecciosos é a displicência com que se manipula a amostra biológica em virtude do excesso de confiança em uma rotina de conhecimento sedimentado. Uma forma de evitar o risco é a utilização de equipamentos de proteção coletiva de forma rotineira e uma política de educação continuada preestabelecida para ser seguida rigorosamente. No laboratório de ensino e pesquisa é comum a rotatividade dos alunos, estagiários e técnicos. Portanto, coletâneas de técnicas e procedimentos de segurança devem estar disponíveis aos usuários, além de serem periodicamente atualizadas e relembradas por meio de cursos de treinamentos contínuos oferecidos.

O propósito deste capítulo não é descrever o procedimento de segurança para cada agente etiológico, mas procurar sugerir algumas diretrizes importantes a serem introduzidas com alguns exemplos, que sem dúvida irão beneficiar os manipuladores de agentes infecciosos e combater seus principais meios de transmissão.

Bacillus anthracis

As formas clínicas mais comuns de infecção por *Bacillus anthracis* são: cutânea, pulmonar e gastrintestinal. Portanto, as precauções estão relacionadas com a utilização de EPI como luvas e aventais de manga comprida, máscara facial com barreira adequada para aerossóis bacterianos e EPC, como uma cabine de segurança biológica (CSB). Além disso, o descarte de lixo em sacos que permitam esterilização com autoclave dentro da sala de manuseio onde se localiza a CSB é uma forma importante de prevenir a contaminação.

A possibilidade de ocorrência de acidentes está associada à manipulação de perfurocortante e à utilização inadequada de equipamentos geradores de aerossóis, como centrífuga sem tampa protetora, agitadores, incubadoras orbitais; e no descarte de materiais utilizados como placas, tubos, *erlenmeyer*, entre outros.

Na ocorrência de acidente com esse tipo de microrganismo, espera-se um período de incubação de dois a sete dias. A lesão inicia-se com pápula, que evolui para vesícula central, e esta pode romper, dando início a uma úlcera, que a seguir formará uma escara. O tecido circunvizinho é edematoso e pode desenvolver vesículas secundárias. Ocorre uma alta frequência de septicemia (5 a 20%) em indivíduos que não tratam a lesão. O tratamento é efetivo com antibioticoterapia.

Outra forma de acidente possível é a inalação de partículas com o *B. anthracis* gerado durante a centrifugação. As partículas que carreiam o agente atingem os pulmões e o linfonodo mediastino com septicemia secundária. Clinicamente, manifesta-se por febre moderada como de uma gripe comum. Após dois a quatro dias, o segundo estágio ocorre com toxicidade causando dispneia, cianose e sudorese profunda. Mesmo com terapia, a morte pode ocorrer 24 horas após os sintomas terem aparecido.

A forma gastrintestinal de antraz é rara e manifesta-se com forte alteração abdominal, febre e septicemia. Ocorre em geral por ingestão de carne crua ou malpassada de animais infectados. Pode acometer o pessoal de laboratório, em geral por acidente, principalmente ao lidar com carcaça de animais portadores dessa doença.

A ocorrência de antraz no laboratório é rara, sobretudo com o advento da vacina. Alguns casos são citados sobre pessoas envolvidas em necrópsias, mas não relacionadas aos procedimentos microbiológicos propriamente ditos.

O tratamento efetivo é obtido nos casos de antraz cutâneo. Nos casos de inalação, porém, apenas a prevenção com vacina associada à antibioticoterapia tem tido sucesso. Penicilinas, tetraciclinas, eritromicina, ciprofloxacina ou antibiótico de largo espectro têm sido utilizados em afecções de pele.

Recomenda-se o manuseio de cultura de *B.anthracis* em condições de nível de biossegurança 3, com EPI para proteção das vias aéreas, olhos e boca, além do uso de luvas resistentes e avental totalmente fechado.

Borrelia spp.

O agente infeccioso é a *Borrelia recurrentis*, causadora de febre recorrente epidêmica e que é transmitida de animais para o homem pelo piolho. Esta infecção é causada por *Borrelia hermsii,* transmitida por carrapatos *Orithodorso hermsii*. Nos Estados Unidos ocorre somen-

te a forma endêmica. *Borrelia* spp. são espiroquetas que podem sobreviver em sangue refrigerado por muitos meses. A proteção imunológica não é efetiva graças à sua capacidade de mudança de produção de variantes de antígenos. O sistema imune pode reagir com eficácia por três a dez episódios de recorrências, tornando-se insensível a esses anticorpos. Em casos fatais foram encontrados *Borrelia* spp. em baço, fígado e outros órgãos, assim como no líquor nos casos de evolução para meningites. A manifestação clínica se apresenta como friagem, febre, mialgia, artralgia, dor de cabeça.

A doença de Lyme é transmitida por animais que foram infectados por picadas de ixodes, um tipo de carrapato. É causada por *Borrelia burgdorferi*. A manifestação clínica se dá por lesões de pele acompanhadas de febre semelhante à gripe, que varia de leve a severa. A seguir, ocorrem artralgia e artrite. A espiroqueta está presente no sangue, liquor e na lesão da pele. Esta se inicia em três dias a quatro semanas após a picada. Apresenta aspecto eritematoso, plano. A evolução clínica é a disseminação da bacteremia para todo o organismo, sendo o estágio seguinte as manifestações neurológicas, artrite, meningite com febre, além de lesão cardíaca. O tratamento feito à base de tetraciclina, doxiciclcina, amoxicilina ou penicilina G quando ocorre o aparecimento da lesão da pele pode ser eficaz, no entanto, 50% dos casos podem ter manifestações de artrite. O tratamento efetivo nas síndromes com artrite seria de trinta dias com penicilina e probenicida.

Recomenda-se o manuseio de culturas de *Borrelia* spp. em condições de segurança 2.

Leptospira interrogans

A ingestão de água ou alimento contaminado com *Leptospira interrogans* causa inúmeros sintomas clínicos que variam de uma meningite asséptica com dor de cabeça, febre e icterícia (em 5 a 10%), até lesões hemorrágicas.

A *L. interrogans*, representada por 250 sorotipos, é a causa de zoonoses bacterianas transmitidas por suínos, carneiros, ratos, camundongos e cachorros, assim como por águas contaminadas por fezes e urinas desses animais.

O período de incubação varia de uma a duas semanas ou mais. É cosmopolita e causa febres recorrentes, meningites, nefrites e hepatites.

É uma infecção bastante comum no laboratório de pesquisa em virtude da manipulação de animais que transmitem essa doença. Os trabalhos experimentais que utilizam ratos, camundongos, cobaias e coelhos podem causar acidentes por arranhões, mordidas ou picadas de agulhas e utensílios de laboratórios contaminados com seus materiais biológicos, levando à contaminação. O tratamento preventivo por vacinas ainda não está disponível, mas a antibioticoterapia por penicilina e tetraciclinas reduz significativamente o quadro clínico.

Recomenda-se o manuseio de culturas de *L.interrogans* em condições de segurança de nível de biossegurança 2.

Staphylococcus spp.

Os estafilococos são bactérias piogênicas altamente adaptáveis, que apresentam várias espécies, principalmente o *Staphylococcus aureus* como o mais patogênico, cuja via de entrada pode ocorrer pela pele lesada ou mucosas, sobretudo pelo pessoal do laboratório e profissionais que atuam na área de assistência à saúde. Os estafilococos podem causar síndrome de choque tóxico, o qual envolve a septicemia e a pneumonia em um terço das vítimas.

O estafilococo piogênico está presente na pele normal ou em tecidos lesados. *S. saprophyticus*, ao contrário, encontram-se mais relacionados à infecção do trato urinário. O *Staphylococcus aureus* pode causar lesões bastante sérias como a osteomielite e a endocardite em casos de bacteremias. Além disso, esse tipo produz toxinas e enzimas, incluindo as coagulases associadas à sua patogenia.

Os estafilococos sobrevivem às condições ambientais de forma resistente, podendo causar intoxicações alimentares. Estas bactérias podem ser carreadas por contato manual, secreções de pessoas contaminadas ou portadores nasais.

A enterotoxina estafilocócica (SE) são um grupo de toxinas intimamente relacionadas à proteína extracelular de peso molecular de 23 a 29 kD, que são produzidos por conjuntos distintos de genes encontrados em uma ampla variedade de linhagens de *S. aureus*. A SE pertencem a uma grande família de exotoxinas pirogênicas homólogos de estafilococos, estreptococos e micoplasmas que são capazes de causar uma série de doenças no homem, por meio de amplificação patológica do receptor de células T normais em resposta à citocina, em função da liberação de linfocinas, na presença de imunossupressão e choque séptico.

SE é altamente tóxica por via intravenosa e a exposição inalatória. Estima-se que a inalação de menos de 1 ng/kg de SEB pode incapacitar mais de 50% das pessoas expostas, e que a DL50 da inalação nos seres humanos podem ser tão baixas quanto 20 ng/kg SEB. Há relatos de que a exposição de membrana mucosa à SE causou sintomas gastrintestinais incapacitantes, conjuntivite e inflamação cutânea localizada[27].

Embora a febre seja rara após a ingestão oral, a inalação de SE provoca febre e dificuldade respiratória acentuada. A inalação de SEB causa uma doença grave e

incapacitante de início rápido (3 a 4 horas), com duração de três a quatro dias, caracterizada por febre alta, dor de cabeça e tosse seca. A deglutição de pequena quantidade de SE durante uma exposição desse tipo pode resultar também em sintomas gástricos. Já a ingestão acidental, inoculação parenteral e gotículas de aerossóis ou, ainda, a exposição da mucosa são considerados riscos primários de SE para animais de laboratório e pessoal do biotério. SE são proteínas monoméricas, relativamente estáveis, facilmente solúveis em água e resistentes à degradação proteolítica e flutuações de temperatura. A estabilidade físico-química da SE sugere que devem ser tomados cuidados adicionais pelos funcionários do laboratório, para evitar exposição às toxinas residuais que podem persistir no meio ambiente.

As toxinas de SE ativas podem estar presentes em amostras clínicas, fluidos de lesão, secreções respiratórias ou tecidos de animais expostos. Devem ser tomados cuidados adicionais durante a necropsia destes animais ou no manejo de amostras clínicas como as fezes, porque essas toxinas podem manter atividade tóxica ao longo do trato digestivo. A intoxicação por SE poderá ocorrer como resultado de autoexposição acidental tanto das mucosas, como por meio do contato das mãos contaminadas no rosto e nos olhos.

As mãos devem ser lavadas com frequência, com cuidado para descontaminação rigorosa do laboratório, quando se trabalha com SE. Dependendo da avaliação de risco da operação laboratorial, o uso de máscara descartável pode ser necessário para evitar a ingestão acidental. São indicados emprego de instalações NB-3, e práticas com equipamentos de contenção, para atividades com elevado potencial para produção de aerossol ou gotículas de água que envolvem o uso de grandes quantidades de SE.

Recomenda-se o manuseio de enterotoxina e de *S. aureus* em condições de biossegurança 2. Quando se manipulam cepas desconhecidas ou resistentes a antibióticos, é aconselhável ao laboratório segurança de nível 3.

Streptococcus spp.

Estreptococos são bactérias que podem ser facilmente carreadas pelas mãos e pela boca, e transmitidas por aerossóis e pela alimentação contaminada. Cerca de 20% das crianças em idade escolar carreiam essa bactéria em suas faringes sem ter nenhuma manifestação clínica. Os *estreptococos* do grupo A se ligam à pele e podem causar infecções ao epitélio por uma adesina denominada ácido lipoteicoico.

O *Streptococcus pneumoniae* produz infecções localizadas ou sistêmicas, principalmente em crianças, e que são caracterizadas por uma resposta inflamatória aguda. Os pneumococos são responsáveis por cerca de 1,5 milhão de pneumonia por ano nos Estados Unidos, sobretudo entre os que estão acima dos 40 anos e abaixo de 5 anos de idade. Estão descritos 84 sorotipos. O ser humano é o reservatório do *S. pneumoniae*. A colonização ocorre na nasofaringe de indivíduos que carreiam como portadores sadios. O microrganismo se dissemina de pessoa a pessoa, sendo os pacientes com HIV, anemia falciforme, tumores linfáticos, ou alcoolismo e esplenectomizados os mais suscetíveis a infecções mais graves.

Recomenda-se a manipulação com esses microrganismos em condições de segurança de laboratório tipo 2. Na presença de cepas desconhecidas ou que apresentem resistência a antibiótico, aconselha-se trabalhar em condições de segurança classe 3.

Bactérias entéricas que causam diarreia

Entre essas bactérias incluem-se as *Enterobacteriaceae* e *Vibrionaceae*, membros do gênero *Campylobacter*.

Diarreia é uma das doenças mais comuns em crianças dos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, como o Brasil. Cerca de 5 milhões de crianças morrem a cada ano por infecção intestinal e desidratação associadas a malnutrição. As bactérias entéricas ou presentes em amostras de fezes podem contaminar facilmente quando manipuladas inadequadamente.

Uma diarreia severa pode ser causada pelo *Vibrio cholerae*, provocando a morte por levar a rápida desidratação e desequilíbrio eletrolítico grave. Na família *Vibrionaceae* estão incluídos os gêneros *Vibrio* (*Vibrio* patogênico como as espécies *cholerae, vulnificus, alginolyticus, mimicus*, *parahemolyticus* etc). A família *Enterobacteriaceae* contém os gêneros *Escherichia* (EPEC, EIEC, EHEC, ETEC, ECAAg), *Shiguela, Salmonella* e *Yersínia*.

As salmoneloses (S. *typhi*) e as shigueloses, assim como infecção por *E. coli* enteropatogênicas, foram citadas apenas em acidentes com manipulação destes nos laboratórios, ou em indivíduos que se alimentam nos laboratórios, fumam, pipetam com a boca ou trabalham com altas concentrações bacterianas sem os devidos cuidados.

Mycobacterium tuberculosis

Mycobacterium tuberculosis é transmitida de forma mais comum de pessoa a pessoa por aerossóis, ou por ingestão e via percutânea mais casualmente. É uma bactéria intracelular que se multiplica no macrófago. A tuberculose pode ser primária ou secundária. A primária é mais limitada, sendo a secundária recrudescente de uma tuberculose primária.

Profissionais que atuam em locais de colheita de material clínico (escarro) em serviços comunitários, o clínico que atende diretamente o paciente, o pessoal da enfermagem e de apoio são suscetíveis à contaminação por *Mycobacterium tuberculosis*[8] se não tomarem os devidos cuidados e não se protegerem com EPI adequados[9].

Recomenda-se o manuseio de culturas das *M. tuberculosis* em laboratórios de nível de biossegurança 3. Para culturas de cepas multirresistentes aos quimioterápicos exige-se o manuseio em laboratório com nível de biossegurança 3 e uso de máscaras de proteção filtrante, e se possível, com fonte de ar filtrado 22 micra, num sistema autônomo[10]. A área de serviço deve ser descontaminada com agentes químicos como formaldeído, ou glutaraldeído após manipulação na CSB ou no local de trabalho. O material biológico manipulado e os resíduos a serem descartados devem ser autoclavados num tempo maior (mínimo 60 minutos) em relação às outras bactérias de parede celular menos resistentes. Atualmente, substitui-se o sistema de desinfecção, descontaminação e esterilização desta natureza por peróxido de hidrogênio e pelo plasma de peróxido de hidrogênio respectivamente, que é inerte ao meio ambiente e não tóxico após decomposição em água e oxigênio[11].

Micobactérias não tuberculose (MNT)

No passado, os isolados de micobactérias identificadas como não sendo *M. tuberculosis* eram denominadas micobactérias atípicas. Atualmente, são denominadas micobactérias não tuberculose (MNT) e são consideradas patógenos oportunistas em seres humanos, mas nenhuma é considerada transmissível.

Conhecem-se mais de 100 espécies de MNT, as quais são amplamente distribuídas no meio ambiente e nos animais. São comuns em fontes de água potável, provavelmente como resultado da formação de biofilmes.

Aproximadamente 25 espécies de MNT são associadas a infecções em seres humanos. Outras espécies estão associadas a infecções em pessoas imunocomprometidas, especialmente pessoas infectadas pelo vírus de imunodeficiência humana (HIV).

As MNT são classificadas tanto de crescimento lento quanto de crescimento rápido. Estas são frequentemente isoladas de amostras clínicas, mas nem sempre podem ser associadas com a doença. Os tipos mais comuns relacionados a infecções humanas são indicadas no Quadro 2. Não foi demonstrada ainda a transmissão de pessoa a pessoa. As infecções pulmonares são presumivelmente o resultado da inalação de bacilos em aerossol, provavelmente a partir da superfície da água contaminada. A fonte de infecções por *M. avium* em pessoas imunocomprometidas ainda não foi estabelecida.

Quadro 2. Micobactérias não *tuberculosis* associadas com infecções humanas

Doença	Espécie de micobactéria
Doença pulmonar com apresentação clínica semelhante a uma tuberculose	*M. kansasii*, *M. avium* e *M. intracellulare*
Linfadenite	*M. avium* e *M. scrofulaceum*
Infecções disseminadas em indivíduos imunocomprometidos	*M. avium*
Úlceras na pele e tecidos moles, incluindo infecções de feridas ulcerativas ou granulomas, por exposição durante natação em piscinas	*M. ulcerans*
Exposição em água salgada e tanques de peixes	*M. marinum*
Infecções de tecido resultantes de trauma, procedimentos cirúrgicos ou injeção de materiais contaminados	*M. fortuitum*, *M. chelonei* e *M. abscessus*

Recomenda-se o manuseio de culturas de micobactérias não tuberculose, em condições de nível de biossegurança 2.

Rickétsias

O pessoal que manipula animais infectados pode estar exposto à infecção, assim como os manipuladores de culturas com alta concentração deste agente infeccioso.

Recomenda-se trabalhar em laboratório com nível de biossegurança 2.

Contaminação com protozoários e helmintos

A contaminação por protozoários e helmintos depende de muitos fatores, como o tipo de parasita, o estágio do seu ciclo de vida, a espécie de material biológico (clínico, culturas, animais infectados ou vetores infectados) que os contém e também a natureza da manipulação dos indivíduos, além das condições de saúde do manipulador. Como exemplo, é possível citar alguns tipos de parasita que podem ser adquiridos por diferentes meios de contágio.

Protozoários teciduais e sanguíneos

Leishmania spp.

A leishmania pode ser infectante na fase amastigota e promastigota quando se acidenta por agulha contaminada e tem contato com locais de ferimentos expostos em qualquer área do corpo, além de manipuladores de vetores infectados. Para evitar esse tipo de acidente,

deve-se proteger todo o corpo, vestindo aventais longos, com mangas compridas e punhos fechados, com fechamentos traseiros – semelhante aos utilizadas por médicos cirurgiões, além de óculos de proteção, luvas de procedimentos resistentes e de boa procedência.

Os acidentes com agulhas podem ser evitados por manuseio cuidadoso, descarte sem reencapar e em recipiente adequado. Ao se acidentar, procurar médico especialista para devido acompanhamento. O diagnóstico é simples se realizado por profissionais. No caso de leishmaniose cutânea, procede-se à análise de material biológico, obtido por escarificação da lesão ou biópsia – por microscopia ótica, após coloração específica. Pode-se, ainda, fazer cultura ou inoculação em animais de laboratório. Tanto em caso de leishmaniose visceral quanto em leishmaniose mucocutânea, recomenda-se fazer sorologia, biópsia e cultura. Nos casos de biópsias, o exame histológico com o parasita confirma a infecção.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Leishmania* spp. em condições de biossegurança nível 2.

Plasmodium spp.

A malária é uma doença caracterizada pela infecção por *plasmodium,* que pode ser adquirido da mesma maneira que a leishmaniose, a saber, por acidente com agulhas contaminadas, exposição de ferimento a material contaminando e ao vetor. A fase infectante é a intraeritrocitária sob a forma de esporozoíta. Os sintomas clínicos são febre, fadiga, anemia e calafrios. O diagnóstico pode ser feito pela pesquisa em extensão de sangue periférico em pico febril, cultura, inoculação em animais de laboratório.

A prevenção do contágio é a mesma citada para os acidentes com material que contém o parasita vivo.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Plasmodium* spp. em condições de biossegurança nível 2.

Toxoplasma spp.

A toxoplasmose pode ser adquirida no laboratório de forma semelhante à leishmaniose e à malária, assomando-se a infecção pelas mucosas. *Toxoplasma gondii* possui três formas infectantes em seu ciclo de vida: oocisto, bradizoítos contidos em cistos e taquizoítos. Os meios de se prevenir contra o contágio seriam os mesmos dos parasitas já descritos, ou seja, vestir luvas, aventais fechados e máscaras, manipular adequadamente as agulhas contaminadas. O diagnóstico é feito por sorologia, com presença de IgM, inoculação em animais de laboratório e cultura de tecidos. Os sintomas podem passar despercebidos em muitos pacientes, mas podem manifestar-se sobre a forma de febre, adenopatia e, às vezes, erupções.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Toxoplasma gondii* em condições de biossegurança nível 2.

Tripanossoma cruzi

A doença de Chagas é adquirida no laboratório por acidentes com agulhas, ferimentos expostos, acidentes com vetores contaminados com *T. cruzi* e pela mucosa. As precauções são semelhantes às anteriores. Os sintomas mais comuns são rubor no local da inoculação, erupção e necrose, febre, fadiga, adenopatia e mudança no eletrocardiograma. O diagnóstico sorológico também é efetivo com presença de IgM nos casos de infecção recente.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Tripanossoma cruzi* em condições de biossegurança nível 2.

Protozoários intestinais

Criptosporidium spp.

A criptosporidiose é adquirida via oral ou transmucosa, a fase evolutiva infectante é a oocítica e esporozoíta. O uso de luva, máscara, protetor ocular e a proteção das mucosas pode prevenir a contaminação por esse parasita. A higienização adequada das mãos também é uma maneira de evitar a contaminação. Os sintomas mais comuns são diarreia e dor abdominal. O diagnóstico é realizado com pesquisa do parasita pela concentração das fezes por técnicas específicas e coloração específica. O imunodiagnóstico para pesquisa de antígeno nas fezes também tem sido utilizado, mas ainda é de difícil diagnóstico laboratorial.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Crisptosporidium* spp. em condições de biossegurança nível 2.

Giardia lamblia

A giardíase e a amebíase também podem ser adquiridas por cistos presentes nas amostras e a via de entrada é a oral. Os cuidados de higiene, como lavar as mãos e usar luvas e máscaras, são a melhor maneira de evitar contágio. Os sintomas são dores abdominais, diarreia e fezes sanguinolentas. No caso da giardíase, acrescentam-se náuseas e flatulência. O diagnóstico laboratorial é o realizado pelo protoparasitológico de fezes, utilizando as técnicas de concentração de cistos. A pesquisa positiva indica contaminação.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Leishmania* spp. em condições de biossegurança nível 2.

Helmintos intestinais

A contaminação profissional por *Ascaris lumbricoides, Enterobius vermiculares, Trichinella, Trichuris,*

Taenia solium, Hyminolepis nana, Strongyloides stercolaris deve-se à ingestão oral de ovos ou larvas, ou contato com a pele no caso das larvas, para alguns parasitas. Portanto, o uso de máscara facial e da luva, assim como a higienização adequada das mãos após a manipulação, praticamente isentará o manipulador da contaminação por esses parasitas. O diagnóstico da maioria dessas parasitoses é realizado com pesquisa de ovos e/ou larvas nas fezes, com exceção da pesquisa de *Trichinella*, que seria por biópsia de músculo e sorologia, e também da cisticercose, que seria por tomografia computadorizada do cérebro e por sorologia. No caso do *Enterobius*, recomenda-se, além do exame das fezes, colher amostra de raspado anal utilizando uma fita adesiva.

Os sintomas clínicos variam para cada parasita. Para a *Trichinella,* dor abdominal e muscular, a *Trichuris* apresenta dor abdominal, assim como para a *Hymenolepis nana*, em que também ocorre diarreia. A esquistossomose apresenta dermatite, febre, hepatoesplenomegalia e adenopatia. A enterobiose tem como sintoma característico prurido anal. A ascaridíase manifesta-se com tosse, febre, pneumonia, diarreia ou constipação, dependendo do indivíduo. Sintomas semelhantes são encontrados na infecção por *Strongyloides stercolaris.* Na presença de qualquer sintoma descrito após ter tido contato com esses, procurar imediatamente um médico para as devidas providências para o início do tratamento.

Recomenda-se o manuseio de amostras e culturas de *Leishmania* spp. em condições de biossegurança nível 2.

INFECÇÃO POR CONTAMINAÇÃO COM VÍRUS

As mais frequentes estão relacionadas aos vírus transmitidos por via aérea. O trabalho em locais com altas concentrações de vírus pode ser uma fonte importante de contaminação.

Na área de saúde é possível a contaminação por acidente com agulhas e material perfurocortante com vírus da hepatite B (HBV) e C (HCV) e em alguns casos com HIV, embora a contaminação por acidentes na maioria dos casos seja pouco frequente, sobretudo com o advento da utilização de materiais totalmente descartáveis e tubos de coletas e seringas de polipropileno ou plástico de alta resistência.

De qualquer forma, historicamente a hepatite viral tem sido relatada como uma das infecções mais comuns adquiridas nos laboratórios da área de saúde pública[4]. Entre as hepatites virais, cinco são as mais comumente adquiridas no laboratório, a saber: hepatites A, B, C, D e E.

As hepatites B, C e D são transmitidas por contaminação por material biológico, principalmente sangue; as hepatites A e E são adquiridas por via oral. A maior precaução deve ser tomada em relação às hepatites B, C e E, pois levam à doença crônica e muitas vezes à cirrose e até ao câncer.

Os cuidados básicos ao manipular amostras de sangue, fezes e urina de pacientes com suspeita de hepatite e outras doenças altamente periculosas são os mesmos, ou seja, vestir aventais com manga comprida e com elástico no punho, luvas resistentes e em duplicata, máscaras, gorro, óculos de proteção; não manipular materiais perfurocortantes e descartá-los em recipiente adequado. Não reencapar agulhas, bisturis e outros materiais perfurocortantes. Utilizar centrífugas com proteção à formação de aerossóis, usar CSB ao manusear amostras suspeitas. Trocar qualquer proteção individual em caso de contato direto com material suspeito. Desprezar com os devidos cuidados de segurança em sacos de esterilização em autoclave, devidamente identificados. Imediatamente submeter à esterilização. Condições de nível de biossegurança 2.

Infecção por fungos

As infecções fúngicas têm assumido uma grande importância por causa do aumento da incidência em pessoas com comprometimento imunológico, em pacientes neutropênicos como os portadores de câncer e os transplantados. Cerca de mil das cem mil espécies de fungos descritas têm sido associados com doenças em humanos, e cerca de cem são capazes de causar infecção em pessoas saudáveis.

As infecções micóticas podem ser classificadas em três grandes grupos: superficial, subcutânea e sistêmica.

As micoses superficiais incluem um número de doenças comuns, mas limitadas à pele, às unhas e ao couro cabeludo. A infecção mais comum é a dermatofitose. Estas são das poucas que contaminam por contato direto ou indireto com humanos e animais.

A infecção subcutânea é um grupo de doença crônica que afeta a derme, o tecido subcutâneo e os ossos. Tais infecções, as quais incluem as cromoblastomicose e a esporotricose, são provocadas por traumas com inoculação de organismos saprófitas do meio ambiente.

As infecções fúngicas sistêmicas são um grupo de doenças que, apesar de acometerem os pulmões, podem disseminar-se por diversos outros órgãos. Os organismos que causam infecções sistêmicas podem ser divididos em dois grupos distintos: os patógenos e os oportunistas. Entre os patógenos podemos incluir *Blastomyces dematitidis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*. Entre o segundo grupo, os oportunistas, enumeramos os *Aspergillus fumigatus,* que invadem apenas os organismos muito debilitados ou imunocomprometidos.

Recomenda-se trabalhar com esses fungos em condições de laboratório com nível de biossegurança 2. Em

caso de manuseio de culturas de fungos que podem causar infecções graves e letais, e incorrer em acidentes com um grande número de células, aconselha-se operar em laboratório de nível de biossegurança 3.

CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO POR PRODUTOS BIOLÓGICOS

Para o manuseio de materiais biológicos, sobretudo os que são contaminantes em potencial ao ser humano, deve-se tomar várias precauções como as abordadas a seguir.

Limpeza, desinfecção, esterilização e descontaminação

Esta seção descreve estratégias fundamentais para a descontaminação de superfícies, itens e áreas em laboratórios a fim de eliminar a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos aos funcionários de laboratório, ao público em geral, e ao ambiente. Fatores ambientais necessários para a transmissão da infecção serão revistos, assim como métodos de esterilização, desinfecção e os níveis de atividade antimicrobiana associados a germicidas químicos líquidos. Os princípios de esterilização e desinfecção são apresentados e comparados a seguir.

Transmissão da infecção através do meio ambiente

As infecções associadas ao ambiente de laboratório podem ser transmitidas direta ou indiretamente ao pessoal do laboratório, a partir de fontes ambientais (por exemplo, o ar, os fômites contaminados, os instrumentos de laboratório e os aerossóis formados durante o processamento de amostras biológicas). Felizmente, as infecções associadas ao ambiente laboratorial (IAAL) são raras, porque há uma série de requisitos necessários para impedir que essa transmissão ocorra. Denomina-se este evento de cadeia de infecção, em geral determinadas por: presença de patógeno de virulência suficiente, dose infectante elevada do patógeno, e um mecanismo de transmissão do patógeno a partir do ambiente para o hospedeiro, ou seja, a existência de uma porta de entrada correta para um hospedeiro suscetível.

Para que a transmissão seja bem-sucedida de uma fonte ambiental, todos os requisitos da cadeia de infecção devem estar presentes. A ausência de qualquer elemento impede a transmissão. Além disso, os agentes patogênicos em questão devem superar estresses ambientais para manter a sua viabilidade, a virulência, e a capacidade de iniciar a infecção no hospedeiro. Os agentes patogênicos muitas vezes estão em níveis elevados no ambiente laboratorial, porém o processo de limpeza convencional é muitas vezes suficiente para evitar que ocorra a transmissão mediada pelo ambiente. No entanto, é prática geral em laboratórios utilizar métodos de esterilização, para remoção da transmissão em potencial de agentes infecciosos.

Princípios da esterilização e desinfecção

Para a implementação de um programa de biossegurança laboratorial é importante compreender os princípios da descontaminação, limpeza, esterilização e desinfecção. Veremos a seguir as definições de esterilização, desinfecção, assepsia, desinfecção e higienização para evitar abusos e confusões. As definições implícitas e a capacidade de inativação de cada processo são discutidas com ênfase na sua realização e, em alguns casos, o acompanhamento de cada estado.

Esterilização

Qualquer item, dispositivo ou solução é considerado estéril quando estiver completamente livre de todos os microrganismos, incluindo os vírus. A definição é categórica e absoluta (ou seja, um item é estéril ou não é). Um procedimento de esterilização é aquele que mata todos os microrganismos, incluindo um elevado número de endósporos bacterianos. A esterilização pode ser realizada pelo calor, gás óxido de etileno, gás, água oxigenada, plasma, ozônio e radiação (na indústria). Do ponto de vista operacional, um procedimento de esterilização não pode ser categoricamente definido. Em contraste, o procedimento é definido como um processo, após o qual a probabilidade de um microrganismo sobreviver em um artigo submetido ao tratamento é menos de um em um milhão (10^{-6}). Isso é conhecido como o nível de garantia de "esterilidade".

Desinfecção

A desinfecção é geralmente um processo menos letal que a esterilização. Ele elimina quase todos os microrganismos patogênicos reconhecidos, mas não necessariamente todas as formas microbianas (por exemplo, esporos de bactérias ou fungos) em objetos inanimados. A desinfecção não garante um exagero e, portanto, não tem a margem de segurança obtida por meio de processos de esterilização.

A eficácia de um procedimento de desinfecção é controlada de forma significativa por uma série de fatores, cada um dos quais pode ter um efeito pronunciado sobre o resultado final. Entre elas estão: a natureza e o número de microrganismos contaminantes (especialmente na presença de esporos bacterianos e fúngicos); a quantidade de matéria orgânica presente (por exemplo, solo, fezes e sangue); do tipo e do estado dos instru-

mentos, dispositivos e materiais para serem desinfetadas e a temperatura empregada.

A desinfecção é um procedimento que reduz o nível de contaminação microbiana, mas há um amplo leque de atividades que se estende desde a esterilidade em um extremo a uma redução mínima do número de contaminantes microbianos em outro. Por definição, a desinfecção química, particularmente a desinfecção de alto nível, difere de esterilização química por falta de seu poder esporicida. Esta é uma simplificação da situação real, pois germicidas químicos são pouco usados como desinfetantes; de fato, para matar um grande número de esporos podem ser necessárias altas concentrações e várias horas de exposição. Desinfetantes não esporicidas podem diferir na sua capacidade de realizar a desinfecção ou descontaminação. Alguns germicidas podem matar rapidamente apenas as formas vegetativas de bactérias comuns, tais como estafilococos e estreptococos, algumas formas de fungos, e lipídios que contêm vírus, enquanto outros são eficazes contra os microrganismos relativamente resistentes, como *Mycobacterium tuberculosis* var. *bovis*, vírus não lipídicos, e a maioria dos fungos.

Classificação de Spaulding para germicidas químicos

Em 1972, o Dr. Earle Spaulding[12] propôs um sistema de classificação de germicidas químicos líquidos em superfícies inanimadas que foi utilizado posteriormente pelo Center of Disease Control (CDC), pelo Food and Drug Administration (FDA) e por líderes de opinião nos Estados Unidos[24]. Tal sistema, que se aplica às superfícies inanimadas, é dividido em três categorias gerais com base no risco teórico de infecção em superfícies contaminadas no momento da sua aplicação. Do ponto de vista laboratorial, essas categorias são:

- Críticas: instrumentos ou aparelhos que são normalmente expostos a áreas estéreis do corpo que requerem esterilização.
- Semicríticas: instrumentos ou aparelhos que tocam as membranas mucosas e podem ser esterilizados ou desinfetados.
- Não críticas: instrumentos ou aparelhos que tocam ou venham a tocar a pele sensível, cujo contato é apenas indireto em pessoas, o material poderá ser limpo ou desinfetado, higienizado com um desinfetante de baixo nível, ou simplesmente limpos com água e sabão.

Em 1991, microbiologistas no CDC[10] propuseram uma categoria adicional, para superfícies do ambiente (por exemplo, pisos, paredes e outros superfícies internas) que não possuem contato direto com a pele da pessoa na qual os germicidas químicos também são classificados por nível de atividade:

Desinfecção de nível alto

Este procedimento mata microrganismos vegetativos e inativa vírus, mas não necessariamente um elevado número de esporos bacterianos. Tais desinfetantes são capazes de esterilização, quando o tempo de contato é relativamente longo (por exemplo, de 6 a 10 horas). Como desinfetantes de alto nível, eles são usados por períodos relativamente curtos (por exemplo, 10 a 30 minutos). Estes são germicidas químicos esporicidas potentes e, nos Estados Unidos, são classificados pelo FDA como esterilizantes/desinfetantes. São formulados para uso em dispositivos médicos, mas não em superfícies ambientais, como bancadas ou pisos de laboratórios[10].

Desinfecção de nível intermediário

Este procedimento mata microrganismos vegetativos, incluindo o *Mycobacterium tuberculosis*, fungos, e inativa a maioria dos vírus. Germicidas químicos utilizados neste processo muitas vezes correspondem a Environmental Protection Agency (EPA) aprovado para desinfetantes hospitalares, que são também tuberculocidas. Comumente, são usados para desinfecção de bancadas de laboratório e como parte de germicidas, detergente utilizado para fins de limpeza.

Desinfecção de nível baixo

Este procedimento mata mais as bactérias vegetativas, exceto *M. tuberculosis*, inativa alguns fungos e alguns vírus. A EPA aprova germicidas químicos utilizados nesse processo, nos Estados Unidos, como desinfetantes hospitalares ou higienizadores.

DESCONTAMINAÇÃO EM LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA

A descontaminação em laboratório de microbiologia deve ser efetuada com grande cuidado[28]. Nesta área, a descontaminação pode implicar a desinfecção de superfícies de trabalho, a descontaminação do equipamento ou em alguns casos poderá exigir até uma esterilização para tornar a operação mais segura[30]. Independentemente do método, o objetivo da descontaminação é proteger o trabalhador do laboratório, o ambiente, e quem entra no laboratório ou manipula produtos de laboratório fora dele. Portanto, a redução da contaminação cruzada no laboratório é um benefício adicional.

Descontaminação e limpeza

Esse procedimento torna uma área, equipamento, item ou materiais seguros para manipulação (ou seja,

Quadro 3. Ordem decrescente de resistência aos produtos químicos germicidas

Micobactérias
Mycobacterium tuberculosis var. bovis, Micobactérias não *tuberculosis*
↓
Pequenos vírus ou não lipídicos
Poliovírus, Coxsackievírus, Rhinovírus
↓
Fungos
Trichophyton spp., *Cryptococcus* spp., *Candida* spp.
↓
Bactéria em forma vegetativa
Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Enterococcus* spp.
↓
Virus de tamanho médio ou lipídicos
Herpes vírus simplex, CMV, vírus sincicial respiratório, HBV, HCV, HIV, hantavírus, vírus Ebola

Observação: há exceções a esta lista. *Pseudomonas* spp. são sensíveis aos desinfetantes de alto nível, mas se eles crescerem em biofilmes em meio aquático ou se formarem nas superfícies, as células protegidas podem apresentar a mesma resistência ao desinfetante mostrada por esporos bacterianos. O mesmo é verdadeiro para a resistência ao glutaraldeído por algumas micobactérias não tuberculosas, alguns ascósporos de fungos ou as metilobactérias rosa pigmentadas. Os príons são também resistentes à maioria dos germicidas químicos líquidos e são discutidos na última parte desta seção.

Germicidas químicos utilizados para a faixa de descontaminação na atividade de desinfetantes de alto nível (ou seja, altas concentrações de hipoclorito de sódio [cloro]), que pode ser usado para descontaminar derramamentos de cultura ou concentrados de agentes infecciosos em laboratórios de investigação clínica, ou desinfetantes de baixo nível e sanitizantes para propósitos gerais de limpeza ou descontaminação de superfícies ambientais no local nos serviços de saúde. A resistência de organismos selecionados para a descontaminação é apresentada em ordem decrescente. Se os agentes perigosos ou altamente infecciosos estão presente em um laboratório, os métodos de descontaminação de derramamentos, equipamento de laboratório, BSC, ou resíduos infectantes são muito significativos e podem incluir prolongados ciclos de autoclave, incineração ou tratamento de gases de superfícies.

razoavelmente livre de risco de transmissão da doença). O objetivo principal é reduzir o nível de contaminação microbiana de modo que a transmissão da infecção seja eliminada. O processo de descontaminação pode ser limpeza de um instrumento, dispositivo ou área com sabão comum e água. O processo de descontaminação de artigos acarreta gastos ao laboratório, e a regulamentação de descarte de resíduos de laboratório é frequentemente realizada por um procedimento de esterilização prévia por meio da autoclavagem a vapor, a maneira mais eficaz de descontaminação, com melhor resultado de custo-benefício (Quadro 3).

Descontaminação de grandes áreas

Descontaminação de área é uma atividade especializada e deve ser realizada por especialistas, com formação adequada e com equipamentos de proteção. Os requisitos de descontaminação de área de laboratórios com nível de biossegurança NB-4 com BSL-3 têm um impacto sobre a concepção dessas instalações. As superfícies interiores dos laboratórios NB-3 devem ser resistentes à água a fim de serem facilmente limpos e descontaminados. Penetrações nessas superfícies devem ser seladas ou vedadas para efeitos de descontaminação. Assim, no laboratório BSL-3, a descontaminação de superfície, que não seja por fumigação, é o principal meio de descontaminação da área. Deve-se tomar cuidado para que as penetrações das paredes, pisos e tetos sejam mantidas a um mínimo possível de preferência "totalmente selado". A verificação dos selos geralmente não é necessária para a maioria dos laboratórios NB-3. O projeto do laboratório BSL-4 exige que as superfícies internas sejam resistentes à água e selados para facilitar a fumigação. Os selos devem ser testados e verificados para assegurar a contenção, a fim de permitir a penetração tanto do líquido de desinfecção como de fumigação. Fumigação periódica é necessária no laboratório terno BSL-4 para permitir a manutenção de rotina e de certificação dos equipamentos. Procedimentos para descontaminação de grandes espaços, tais como incubadoras ou salas são variadas e significativamente influenciadas pelo tipo de agente etiológico envolvido, pelas características da estrutura que contém o espaço e pelos materiais presentes no espaço. Os principais métodos de descontaminação de área são descritos a seguir.

Formaldeído paraformaldeído

Formaldeído em estado gasoso em uma concentração de 0,3 g/m^3 em período de exposição de quatro horas é frequentemente utilizado para a descontaminação de áreas. O formaldeído gasoso pode ser gerado pelo aquecimento de flocos de paraformaldeído (0,3 g/L)

em um recipiente resistente e, assim, convertê-lo para gás formaldeído. A umidade deve ser controlada e o sistema funciona otimamente a 80% de umidade relativa. Esse método é eficaz em matar microrganismos, mas há a questão de toxicidade. Existem informações complementares sobre as questões ambientais e de segurança, relacionadas com paraformaldeído, disponível no site da EPA: www.epa.gov/pesticidas.

O vapor de peróxido

O peróxido de hidrogênio pode ser vaporizado e utilizado para a descontaminação de caixa de anaerobiose estrita (*glovebox*), bem como salas de pequena área[25]. O peróxido de hidrogênio em forma de vapor tem se mostrado um eficaz esporocida em concentrações que variam de 0,5 a 10 mg/L. A melhor concentração desse agente é de cerca de 2,4 mg/L com um tempo de contato de pelo menos 1 hora. Esse sistema pode ser usado para descontaminar *glovebox* e ambiente interno de pequena sala estufa. Uma vantagem desse sistema é que os produtos finais (água) não são tóxicos. Pode ser usado em baixa umidade relativa.

Gás de dióxido de cloro

O gás de dióxido de cloro é esterilizante e pode ser usado para a descontaminação das salas de laboratório, equipamentos, *glovebox* e incubadoras. A concentração de gás no local da descontaminação deve ser de aproximadamente 10 mg/L, com tempo de contato de 2 horas. O dióxido de cloro possui as propriedades bactericida, virucida e esporicida do cloro, mas ao contrário deste, não leva à formação de trialometanos, tampouco combina com amônia para formar produtos orgânicos clorados (cloraminas). O gás não pode ser comprimido e armazenado em cilindros de alta pressão, mas é gerado sob demanda, usando um sistema de geração baseado em uma coluna de fase sólida. O gás é diluído na concentraçãode uso, geralmente entre 10 e 30 mg/L. Dentro de limites razoáveis, um sistema de geração de gás dióxido de cloro não é afetada pelo tamanho ou a localização do destino final para o gás. A umidade relativa do ar não precisa ser controlada, mas a umidade alta é ótima. Embora na maioria das vezes seja usada em esterilizadores fechados, o local de destino para o gás dióxido de cloro não precisa necessariamente de uma câmara fechada. O gás dióxido de cloro sai do gerador a uma pressão positiva com modesta taxa de fluxo. A caixa também não precisa estar sob vácuo, podendo ser utilizada como um recinto para realizar testes de esterilidade. Este gás poderá ser aplicado em *glovebox* ou em cabine de biossegurança (BSC) selada, ou até mesmo em pequena sala selada, para evitar o escape do gás dióxido de cloro, o qual é rapidamente degradado pela luz, portanto, deve-se tomar cuidado para eliminar as fontes de luz na área a ser descontaminada.

DESCONTAMINAÇÃO DE SUPERFÍCIES

Os germicidas químicos líquidos, formulados como desinfetantes, podem ser utilizados para a descontaminação de grandes áreas.

O procedimento usual é inundar a área com um desinfetante, por período de até várias horas. Essa abordagem é confusa, pois alguns dos desinfetantes utilizados representa um risco tóxico para o pessoal do laboratório. Por exemplo, a maioria dos desinfetantes de nível alto existente no mercado é formulada para uso em instrumentos e dispositivos médicos, e não para as superfícies ambientais. Os desinfetantes de nível baixo ou intermediário são formulados para uso em fômites e superfícies de ambientes, mas falta discriminação da potência do desinfetante de nível alto. A maioria dos desinfetantes de níveis intermediário e baixo pode ser usado com segurança e, como todos os desinfetantes, as instruções do fabricante devem ser cuidadosamente seguidas. Os desinfetantes que têm sido utilizados para a descontaminação incluem: soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 5-600 partes por milhão (ppm), desinfetantes oxidantes como peróxido de hidrogênio, ácido paracético, fenóis e iodóforos.

As concentrações e o tempo de exposição variam de acordo com a formulação e as instruções do fabricante. Consultar a Tabela 3 para obter uma lista de germicidas químicos e seus níveis de atividade. Um plano de controle de derramamento deve estar disponível no laboratório. Este plano deverá incluir a justificativa para a seleção do agente desinfetante, a abordagem empregada para a sua aplicação, tempo de contato e outros parâmetros. Agentes infecciosos que exigem níveis de contenção BSL-3 e BSL-4 apresentam um elevado risco para os trabalhadores e, possivelmente, ao ambiente, e deve ser gerenciada por pessoas bem informadas, como equipe de profissionais treinados e equipados para trabalhar com material químico concentrado.

Concentração do agente químico e tempo de exposição

Em geral, quanto mais concentrado o produto químico, maior a eficácia e menor o tempo necessário para a destruição dos microrganismos, portanto, a potência do desinfetante depende da concentração e do tempo de exposição. Os compostos fenólicos são altamente potentes como desinfetantes.

Na maioria dos casos o tempo requerido varia de 10 a 30 minutos para desinfecção de superfície, de 30

Tabela 3. Níveis de atividade germicida de líquidos selecionados

Produtos/procedimentos	Concentração aquosa	Níveis de atividade
Esterilização		
Glutaraldeído	Variável	
Peróxido de hidrogênio	6 – 30%	
Formaldeído	6 – 8%	
Dióxido de cloro	Variável	
Ácido peracético	Variável	
Desinfecção		
Glutaraldeído	Variável	Alto a intermediário
Ortoftalaldeído	0,5%	Alto
Peróxido de hidrogênio	3 – 6%	Alto a intermediário
Formaldeído	1 – 8%	Alto a baixo
Dióxido de cloro	Variável	Alto
Ácido peracético	Variável	Alto
Compostos clorados	500 – 5.000 ml/L cloro livre disponível	Intermediário
Alcoóis (etílico, isopropílico)[a]	70%	Intermediário
Compostos fenólicos	0,5 – 3%	Intermediário a baixo
Compostos de iodo[b]	30 – 50 mg/L iodo livre até 10.000 mg/L de iodo disponível 0,1 – 0,2%	Intermediário a baixo
Compostos de amônio quaternário	Baixo	

[a] A eficácia dos alcoóis como germicidas de nível intermediário é limitada porque elas evaporam rapidamente, resultando em tempos de contato curtos e também falta a capacidade de penetrar no material orgânico residual. Eles são rapidamente tuberculocida, bactericida e fungicida, mas pode variar em espectro de atividade virucida (ver texto). Os itens a serem desinfetados com álcool devem receber cuidadosa pré-limpeza, em seguida, devem ser totalmente submersos por um tempo de exposição adequado (por exemplo, 10 minutos). [b] Apenas os iodóforos e registrados com EPA como desinfetantes de superfície dura devem ser usados, seguindo rigorosamente as instruções do fabricante, quanto à diluição adequada e à estabilidade do produto. Iodóforos antissépticos não são adequados para desinfetar equipamentos, superfícies ambientais, ou instrumentos médicos.

minutos para desinfecção de artigos e de 10 a 18 horas para esterilização de artigos.

Outros fatores

O pH, a temperatura, a água e a umidade relativa da matéria orgânica podem influenciar na eficácia do agente químico.

De modo geral, o aquecimento aumenta a eficácia dos desinfetantes. No entanto, é necessário tomar cuidado, pois o aquecimento provoca evaporação de compostos, reduzindo a concentração efetiva da mistura desinfetante. O pH de alguns desinfetantes influencia drasticamente, como os compostos quaternários que agem por carga, como cátions. O pH alcalino favorece a ação. Os compostos fenólicos atuam mais efetivamente em pH ácidos, apesar de agir em pH neutro ou ligeiramente básico.

Dependendo da concentração de cálcio e de magnésio na água (água dura), esses interagem com os sabões e outros compostos, formando precipitados insolúveis. A exemplo disso, os compostos quaternários de amônio são bastante afetados com a presença de água dura.

No caso de utilização de compostos gasosos como o óxido de etileno e formaldeído, a umidade pode interferir de forma significativa.

A matéria orgânica pode servir de barreira física, pois interage com os compostos ativos, como o cloro, inibindo a ação direta. Ela pode apresentar-se sob várias formas como sangue, pus, material fecal e resíduos de alimentos. Pode também agir formando complexos menos ativos e deixando menor quantidade do agente químico disponível para atuar sobre os microrganismos.

Entre os compostos químicos utilizados na desinfecção, pode-se citar alcoóis, compostos liberadores de cloro, formaldeído, glutaraldeído, iodóforos, fenóis sintéticos e compostos quaternários de amônio, entre outros.

Etanol

O etanol atua na inibição microbiana por desnaturação da proteína, razão pela qual o etanol absoluto é menos efetivo. Provavelmente ele inibe a divisão celular por interferir na produção de metabólicos essenciais.

O etanol é o desinfetante e descontaminante mais empregado no Brasil, utilizado nas superfícies de banca-

da, de fluxo laminar, equipamentos de grande e médio porte, e para antissepsia das mãos e de muitos equipamentos de uso médico.

Por ser volátil e inflamável, o etanol deve ser cuidadosamente utilizado, pois é irritante aos olhos e considerado tóxico. A aplicação frequente produz irritação e dessecação da pele.

O isopropanol também pode ser utilizado com a mesma eficácia.

Formaldeído

Apresenta atividade para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas na forma vegetativa, incluindo as micobactérias, os fungos, os vírus lipofílicos e hidrofílicos e os esporos bacterianos. A atividade esporocida é lenta, exigindo um tempo de contato em torno de 18 horas para a maioria das formulações. O formaldeído destrói os microrganismos por meio da alquilação dos grupamentos sulfidrilas de proteínas e dos anéis de nitrogênio das bases das purinas[13].

O formaldeído é pouco ativo a temperaturas inferiores a 20°C, aumentando sua atividade em temperaturas acima de 40°C. Apresenta atividade mesmo na presença de material orgânico, não sendo inativado por materiais naturais ou sintéticos e detergentes. Se utilizado na forma gasosa, requer umidade relativa acima de 50% ou acima de 70% para alguns autores.

Para a descontaminação de ambientes fechados, utiliza-se a técnica da fumigação (cabines de segurança, salas diversas, salas de envase, biotérios e hospitais).

Em virtude de sua toxicidade, por se tratar de uma substância irritante, não se recomenda seu uso para desinfecção rotineira de superfície, equipamentos e vidraria, podendo ser utilizado em situações especiais, de acordo com o microrganismo envolvido. A concentração utilizada com formalina é de 18 mL e 35 mL de água/m^3 por 24 horas. Para o paraformaldeído, 4 a 10,5g/m^3 por 24 horas. Para desinfecção 4% (v/v), por 30 minutos. Para esterilizações, aplicam-se soluções alcoólicas a 8% e soluções aquosas a 10% ou produtos comerciais por cerca de 18 horas.

Por ser altamente tóxico e conter vapores irritantes para o sistema respiratório e para os olhos, não se aconselha a utilização sem as devidas precauções, sobretudo em virtude das reações de sensibilização e por ser um carcinógeno em potencial. A quantidade máxima recomendada na atmosfera é de 1 ppm[14].

Glutaraldeído

Esta substância possui amplo espectro de atividade com ação rápida, atuando sobre as bactérias na forma vegetativa, incluindo micobactérias, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos e esporos bacterianos. Tem atividade esporocida mais eficiente que outros aldeídos.

Sua ação nas micobactérias é mais lenta. Tem maior atividade em pH alcalino (7,5 a 8,5). Pode-se ativar o glutaraldeído com bicarbonato de sódio 0,3%, sendo recomendado o uso em uma concentração de 2%. Após sua ativação, deve ser utilizado antes da polimerização, quando se torna inativo. A ação é inibitória pela alquilação de proteínas que contêm grupos sulfidrilas, hidroxila e amino presentes nos microrganismos, alterando os ácidos nucleicos e a síntese de proteínas. Sua aplicação é mais efetiva, porém seu alto custo traz restrições. É usado como esterilizante de materiais cirúrgicos, como endoscópios, equipamentos de aspiração e artigos que não podem ser submetidos a métodos físicos. Nos laboratórios a utilização é limitada em razão do alto custo.

A concentração recomendada é a de 2% em soluções ácidas, que são ativadas por agentes alcalinizantes. Após sua ativação, aconselha-se utilizá-lo em 14 dias. O tempo de contato para desinfecção é em torno de 30 minutos e de 10 horas para esterilização.

O glutaraldeído é tóxico, irritante para pele, mucosas e olhos, mas em menor grau que o formaldeído. Pode provocar dermatite e sensibilização da pele. O limite máximo recomendado é de 0,2 ppm.

Compostos liberadores de cloro ativo

Vários são os produtos liberadores de cloro ativo utilizados na desinfecção em diversas áreas. Os mais comuns são os inorgânicos: hipoclorito de sódio, cálcio, lítio; e os orgânicos: ácido dicloroisocianúrico e seus sais sódicos e potássicos e o ácido tricloroisocianúrico[15].

Esses compostos são ativos contra bactérias nas formas vegetativas, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, micobactérias, esporos bacterianos, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos. Em altas concentrações, apresentam efeito letal para os príons. A forma ativa é o ácido hipocloroso (HOCl), que se forma em soluções com pH de 5 a 8. Os íons hipocloritos (OCl^-), que predominam nas soluções alcalinas fortes, constituem a forma menos ativa. A eficácia do cloro decresce com o aumento de pH e vice-versa. O mecanismo de ação do cloro ativo ainda não é bem conhecido, embora algumas hipóteses sugiram combinação com as proteínas de membrana celular, formando compostos tóxicos e inibição de enzimas essenciais.

Os compostos liberadores de cloro reagem rapidamente com a matéria orgânica, incluindo sangue, fezes e tecidos. Sua atividade reduz significativamente, de forma proporcional à presença de matéria orgânica. Dessa forma a quantidade de cloro disponível deve ser elevada nos processos de desinfecção para poder suprir a demanda necessária para destruir os microrganismos.

Os hipocloritos são instáveis e incompatíveis com detergentes catiônicos. Sua estabilidade depende de fatores como concentração, temperatura, pH, luz e metais. As soluções concentradas (100.000 ppm de cloro ativo) são mais instáveis do que as diluídas. Altas temperaturas reduzem a estabilidade, enquanto o pH baixo favorece a ação microbicida destes compostos, porém os tornam mais instáveis. O armazenamento deve ser realizado de forma tamponada em pH alto, de forma que ao diluir o pH abaixe, tornando-o mais ativo. A decomposição fotoquímica ocorre na presença de ions, metais pesados, cobalto, manganês, níquel e ferro, produzindo cloreto e oxigênio.

Os hipocloritos são corrosivos para metais, principalmente quando aplicados em objeto de prata ou alumínio, e ainda atacam, quando em altas concentrações, as superfícies de aço inox.

O emprego desses compostos liberadores de cloro ativo é amplo em desinfecção, em geral de objetos e superfícies inanimadas, inclusive as contaminadas com sangue e outros materiais orgânicos, e também para recipientes de descarte de materiais. Utiliza-se na desinfecção de materiais supercríticos não metálicos e artigos de lactários, sendo ainda recomendado na desinfecção de água para consumo humano e para processos industriais, incluindo água de piscinas e alimentos.

A solução de hipoclorito disponível se apresenta na concentração em torno de 5%, como reagente químico, e de 2% como água sanitária. Os hipocloritos de cálcio e lítio são compostos sólidos e os isocianúricos são comercializados na forma de pó, com detergente.

Seu uso deve ser feito na concentração de 1.000 ppm por 10 minutos de contato para desinfecção e descontaminação. Para desinfecção em lactários, 200 ppm por 60 minutos, para desinfecção de material de inaloterapia e oxigenoterapia não metálicos, 200 ppm por 60 minutos, e para a desinfecção de artigos semicríticos, 10.000 ppm por 30 minutos. Recipiente de descarte de materiais 10.000 ppm.

Os compostos liberadores de cloro são tóxicos, causando irritação na pele e nos olhos. Nas mucosas provocam irritação e corrosão. A inalação do ácido hipocloroso gera tosse e choque, podendo causar irritação severa no trato respiratório.

Fenóis sintéticos

Estas substâncias são derivadas de fenol, em que os átomos de hidrogênio ligados ao anel benzeno são substituídos por grupos funcionais (alquil, fenil, benzil ou halogênio). Tais substituições representam um aumento na ação antimicrobiana e uma diminuição do caráter irritante. Os mais comuns são ortofenilfenol, ortofenil benzil para clorofeno e para terciário butilfenol.

Sua ação é semelhante aos compostos fenólicos, mas não possuem atividade biocida para esporos bacterianos e vírus hidrofílicos. Eles inativam sistemas enzimáticos essenciais e provocam o extravasamento de metabólitos através de parede celular. Sua atuação é maior em pH neutro ou ligeiramente ácido. A influência do pH é crítica, pois a alcalinidade reduz sua eficácia. Uma das vantagens dessa substância é quase não ser afetada pela presença de matéria orgânica. Os óleos e as gorduras reduzem sua ação, sendo incompatíveis com detergentes catiônicos e inativados por detergentes não iônicos.

Os fenóis são utilizados para desinfecção de objetos e superfícies inanimadas (bancadas, pisos etc.), em laboratórios, hospitais e biotérios, em situação em que haja necessidade de desinfecção na presença de matéria orgânica. Não se recomenda, para artigos que entram em contato com trato respiratório, alimentos, objetos de látex, acrílico e borracha. Tampouco são indicados em berçários, em virtude da ocorrência de hiperbilirrubinemias em criança.

Por serem insolúveis em água, as formulações contêm tensoativos aniônicos ou sabões e emulsificantes. A concentração relativa entre o tensoativo/sabões é crítica, devendo o produto ser diluído na hora do uso. Por serem tóxicos, deve-se evitar contato com a pele, mucosas etc. Além disso, deve-se sempre utilizar proteção adequada para a sua aplicação.

Compostos quaternários de amônio

Esses compostos são agentes em que o átomo de nitrogênio do grupo amônio possui uma valência de 5, sendo quatro dos substituintes radicais alquila ou arila e o quinto um haleto (cloreto), sulfato ou similar. Cada composto possui características antimicrobianas próprias que dependem da distribuição e do tamanho das cadeias dos radicais. Alguns compostos frequentemente utilizados são cloretos de alquildimetilbenzil amônio e cloretos de dialquildimetil amônio.

A atividade antimicrobiana é muito efetiva nas bactérias Gram-positivas e em menor grau nas Gram-negativas, sendo as pseudomonas especialmente mais resistentes. São ativos para alguns fungos e para vírus não lipídicos. Não apresentam ação letal para esporos bacterianos, tampouco para vírus hidrofílicos e micobactérias.

A ação é atribuída à inativação de enzimas responsáveis pelos processos de produção de energia, à desnaturação de proteínas celulares essenciais e à ruptura da membrana celular.

Esses agentes bactericidas são fortemente inativados por proteínas pelo processo de adsorção por vários materiais naturais e sintéticos e por detergentes não iônicos e sabões. São influenciados negativamente pela presença dos íons cálcio e magnésio presentes na água dura. Po-

dem danificar borrachas sintéticas, cimento e alumínio. O pH ideal é o alcalino (9-10); valores abaixo de 7 são desfavoráveis. Possuem efeito residual.

Estes produtos são recomendáveis para desinfecção ordinária de superfícies não críticas como pisos, imobiliários e paredes. Além disso, são apropriados para desinfecção de superfícies e equipamentos em todas as áreas relacionadas com alimentos. As formulações são apresentadas na forma concentrada, com mais de um princípio ativo, devendo, portanto, ser diluídas de forma adequada. Os compostos quaternários são de baixa toxicidade, porém podem causar irritação e sensibilização da pele.

Iodóforos

Os iodóforos constituem uma combinação entre o iodo e um agente solubilizante ou carreador. O complexo resultante fornece um reservatório de iodo que é liberado em pequenas quantidades na solução aquosa. O composto mais conhecido é o polivinilpirrolidona-iodo (PVP-I).

Tem atividade contra bactérias na forma vegetativa, incluindo micobactérias, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos e esporos bacterianos. A atividade esporocida pode requerer tempo de contato prolongado.

O mecanismo de ação do iodo se deve à atividade de ruptura de estruturas de proteínas e de ácidos nucleicos e à interferência na síntese proteica. Os iodóforos são rapidamente inativados por proteínas e por substâncias plásticas e detergentes não iônicos.

Utiliza-se esse antisséptico como alternativa em situações em que há necessidade de ação rápida e de amplo espectro, a saber: na desinfecção de ampolas, vidros, termômetros, estetoscópios, superfícies externas e metálicas de equipamentos. Emprega-se também em superfície de equipamentos relacionados a alimentos. Não se deve usar em metais não resistentes à oxidação (cromo, ferro, alumínio e outros) e em materiais que absorvem o iodo e mancham, como os plásticos.

A formulação antisséptica contém 1% de iodo livre em base alcoólica ou aquosa. O produto para escovação cirúrgica possui 0,75%. Soluções diluídas possuem atividade mais rápida que as concentradas. A razão para tal ainda não é conhecida; supõe-se que a ligação do polímero carreador ao iodo esteja mais fraca, disponibilizando o iodo livre. Portanto, as diluições têm de ser feitas de forma adequada para uso correto.

Dada a baixa toxicidade, há uso indiscriminado, devendo, portanto, prevenir-se contra a atividade irritante em especial para os olhos, e menos para a pele.

Um local de trabalho adequadamente limpo e organizado reduz os riscos biológicos aos manipuladores. A utilização correta dos produtos de limpeza para cada finalidade é um bom início para evitar os riscos biológicos.

MONITORAMENTO E CONTROLE DE RISCOS BIOLÓGICOS

A exposição dos indivíduos e do meio ambiente a substâncias prejudiciais geradas por atividades de ensino, pesquisa e biotecnológicas tem sido uma grande preocupação. Os diversos estudos têm mostrado que a maior discussão gerada está em torno da exposição a aerossóis, pois sua inalação é a via mais comum para atingir o organismo e o meio ambiente por se disseminar com maior facilidade. É importante salientar que não só os trabalhadores diretamente envolvidos estão expostos, mas toda a circunvizinhança. Estudos realizados por Harper[16] mostram que 27% das centrífugas seladas não apresentam eficiente barreira para conter aerossóis gerados por experimentos de acidentes propositais utilizando esporos de *Bacillus subtilis* como marcador. Outros estudos foram realizados em ambientes com presença de equipamentos como fermentadores, mostrando falhas de muitos sistemas de segurança adotados com a utilização de espumas, filtros e outros materiais.

Uma análise bem conduzida deve ser sempre implementada para avaliar todos os aspectos, considerando-se o tamanho, a forma, a concentração, a densidade das partículas, para efetiva atuação e para prevenir contra a exposição desnecessária.

A importância do controle de exposição está em conhecer o risco gerado em cada ambiente. Portanto, um bom procedimento de coleta é fundamental para implementar uma estratégia adequada de controle e prevenção de riscos[17].

OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE AEROSSÓIS BACTERIANOS

A amostra deve ser representativa em relação ao local de colheita. Para isso, deve-se priorizar a minimização de perdas pelo sistema de coleta para uma eficiente medida de exposição. Vários fatores devem ser considerados na obtenção de amostras. Um deles é a movimentação do ar no local a ser avaliado, considerando a exaustão por sistemas centrais ou calor gerado pelos equipamentos ou sistemas envolvidos nos processos biotecnológicos. Em locais com ventilação acentuada o prejuízo é considerável. Para minimizar os erros, são necessárias múltiplas colheitas com direcionamento do sistema de colheita em vários sentidos onde circula o ar.

As amostras devem ser obtidas sempre em condições semelhantes ao ambiente, ou seja, em condições isocinéticas e isoaxiais. Se a velocidade de sucção for maior que a dinâmica de movimento do ar local, provocará um resultado com eficiência maior que 100%, que não reflete a realidade. No esquema da Figura 1, pode-se observar as condições de colheita em várias si-

tuações. Nela são apresentados esquemas de obtenção de amostras.

MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE AR

Os coletores mostram ser adequados para obtenção de partículas de poeira. No entanto, para aerossóis bacterianos os sistemas devem ser devidamente adaptados para tal finalidade. Forças estáticas, forças deformativas e o efeito dessecante têm sido a principal causa de interferências na obtenção de amostra[18]. Observou-se também, em colheitas realizadas em sistemas líquidos, que os microrganismos viáveis recuperados dependem de vários fatores como condições de umidade dos aerossóis e a constituição do fluido coletor. As condições de reidratação podem danificar a membrana celular, impedindo a entrada de nutriente[19]. As colheitas também podem ser realizadas em sistemas com meios sólidos, que possibilitam leituras diretas após a incubação, observando as colônias na superfície do meio. Em todos os sistemas é importante a seleção dos nutrientes a serem colocados que podem influenciar significativamente para a recuperação das bactérias. Não é preciso salientar a necessidade de colocar todos os componentes essenciais para a recuperação das células, permitindo sua multiplicação para a formação das colônias. Em alguns casos pode-se colher amostras em meios seletivos. Ou seja, utilizam-se meios que pré-selecionam a bactéria que se quer isolar. Um exemplo comum é a presença de coliforme, que pode ser selecionado utilizando-se meios com sais biliares. No entanto, ao comparar com uma colheita realizada com ágar enriquecido, a recuperação foi maior, mostrando uma modificação na sensibilidade do meio utilizado para coliformes em relação ao meio seletivo com os sais biliares, quando coletados por meio de partícula de aerossóis. Portanto, a escolha dos sistemas e dos meios de amostragem do ar é de extrema importância. Recomenda-se que se façam em vários meios de cultura e em colheitas múltiplas, além do controle de qualidade que pode ser realizado com bactérias radioativamente marcadas.

INSTRUMENTOS DE AMOSTRAGEM DE AR

Uma grande variedade de instrumentos pode ser encontrada para amostragem do ar para análise de microrganismos, que estão entre os seguintes sistemas: coletores inerciais, filtros e precipitadores (eletrostático e térmico). Precipitadores são instrumentos complicados e volumosos e pouco utilizados. Os coletores inerciais que obtêm amostras de partículas que se movem pela gravidade ou sobre influência de uma bomba são os mais utilizados, portanto são rapidamente discutidos neste capítulo.

A seguir, estão vários tipos de coletor inercial conhecidos.

Placas coletoras por sedimentação

A técnica que utiliza esse sistema baseia-se na exposição do meio de cultivo ao ambiente a ser analisado por determinado período. A utilidade dessas placas para colher os microrganismos depende da massa das partículas, portanto, é possível correlacionar o tempo gasto para as partículas sedimentarem com o diâmetro e assumirem a densidade. Isso permite a seguinte extrapolação: se uma coluna de ar de 1 metro de altura sobre uma placa de assentar contém partículas de 15 mm de diâmetro, deve-se expor por 150 segundos para que todas as partículas dessa coluna sejam coletadas. Da mesma forma, para partículas de 10 mm de diâmetro, seria necessário um tempo de exposição de 350 segundos e para partículas de 5 mm de diâmetro um tempo de 1.500 segundos. Para partículas menores de 2 mm o tempo necessário seria tão prolongado que consideraria não sedimentável. Deve-se observar a corrente de ar no local da colheita que pode ser um fator limitante, podendo causar interferência significativa. As placas de sedimentação são recomendadas em áreas limpas como

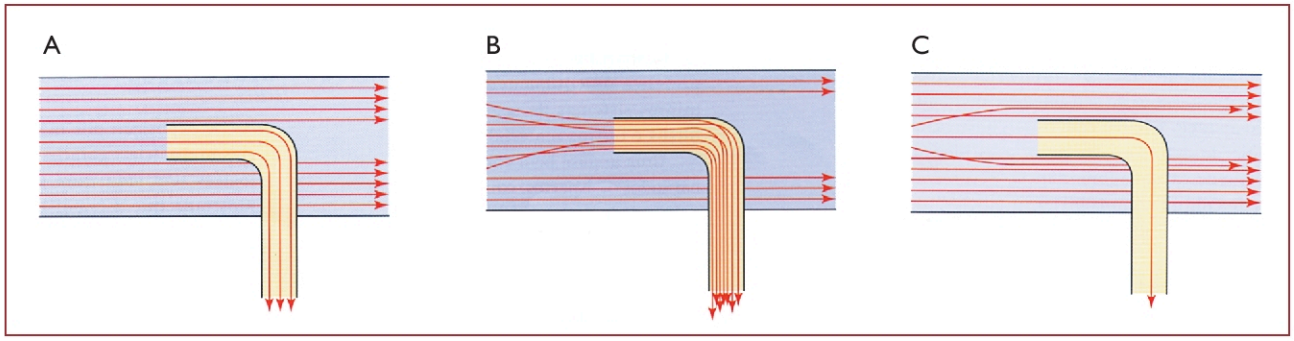


Figura 1. Esquemas ilustrativos de obtenção de amostras ambientais em condições isocinéticas (A), e com maior (B) e menor (C) velocidade de sucção.

nas indústrias farmacêuticas, que apresentam a vantagem de detectar mudança da qualidade do ar.

Coletor de May

É um sistema de vidro que coleta o ar fazendo o fluxo colidir com a parede interna do sistema com vazão lateral. O controle do fluxo de ar é realizado pela pressão aplicada na sucção do sistema. O tubo de entrada simula o sistema nasal humano, ou seja, apresenta uma curvatura semelhante que passa por um capilar que leva o jato de ar ao fundo do tubo fazendo o ar coletado colidir (Figura 2). A pressão mínima é de 0,5 bar de fluxo. Em tais condições obtêm-se, em média, 12,5 L/min de ar, sendo, portanto, muito eficiente para colher partículas com microrganismos ou somente partículas que contêm de 0,8 a 15 mm de diâmetro. As partículas maiores chocam-se com a curvatura do sistema que será recuperada lavando o sistema de forma adequada com o líquido de colheita que é utilizado no sistema (10 mL). Segundo os estudos de May e Harper[20], esse sistema é eficiente para partículas que contêm esporos de *Bacillus globigii* (*B. subtilis* var. *Niger*) aspergido em água destilada. Esses resultados são confirmados com amostras marcadas com radioisótopos. Uma das maiores desvantagens é a destruição de microrganismos mais sensíveis no fundo do equipamento. Outros sistemas mais aperfeiçoados foram desenvolvidos utilizando-se três compartimentos de colheita, simulando de forma mais próxima o sistema respiratório humano, de tal forma que o primeiro compartimento corresponde à via aérea superior do trato respiratório, o segundo, aos bronquíolos e o terceiro compartimento aos alvéolos pulmonares. Esse sistema é mais eficiente e possibilita estudar o tamanho das partículas com maiores detalhes. Acrescente-se que o primeiro compartimento recolhe as partículas maiores, o segundo as partículas intermediárias e o terceiro as menores.



Figura 2. Esquema do Coletor de May.

Coletor de impacto com peneiras de multiestágio

Também conhecido como coletor de Andersen[21], foi descrito por este cientista em 1958. É um sistema que contém seis placas perfuradas, como peneiras de orifícios que iniciam com 1,18, 0,91, 0,17, 053, 0,34 e 0,25 mm que selecionam partículas de tamanho de 7,0, 4,7-7,0, 33-4,7 2,1-3,3, 1,1-2,1 e 0,65-1,1 mm respectivamente (Figura 3). Esses orifícios nas condições controladas da colheita de 28,3 L/min (1 cfm) mantêm uma velocidade do ar de 1,08, 1,80, 2,97, 5,28, 12,78, e 23,29 m/s respectivamente para cada tamanho de orifício, de tal forma que as partículas maiores são colhidas em uma placa com meios de cultura, após a passagem pelos orifícios maiores e assim sucessivamente. Após a colheita, as placas são incubadas e realizam-se as contagens das colônias. Esse sistema apresenta resultados semelhantes ao do sistema de três estágios de May[22]. No entanto, o sistema de Andersen apresenta a desvantagem em colheita na qual existe uma grande concentração de bactérias, o que não acontece com o de May, em que a colheita é feita em meio líquido, o qual poderá ser diluído a critério desejado.

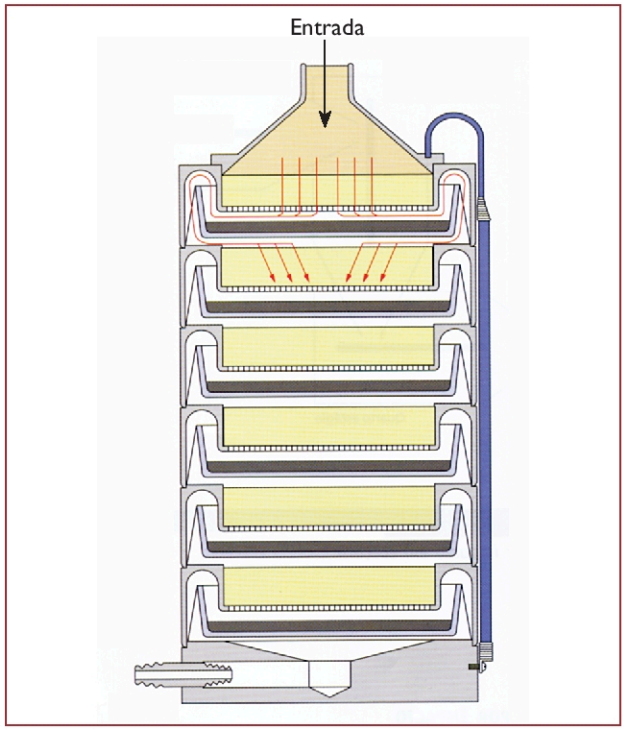


Figura 3. Esquema representativo do coletor proposto por de Andersen[21].

Coletor por impacto em cascata

Esse coletor é um sistema com concepção simples, mas versátil e robusto para obtenção e determinação de tamanho de aerossóis microbianos. Como o próprio nome diz, a colheita é realizada em cascata (ver esquema, Figura 4), ou seja, a amostra é obtida em quatro compartimentos, nos quais as partículas se subdividem através de passagem em orifícios de tamanhos gradativamente reduzidos. A amostra é colhida em lâminas de microscópio que podem ser utilizadas para coloração específica ou ser levadas e semeadas em meios de cultura para posterior identificação. O sistema permite colheita de 17,5 L/min de ar, cada compartimento recupera partículas de 6-20 mm, 2-6 mm, 1-3 mm e 0,5-1,5mm, respectivamente nos estágios 1, 2, 3 e 4.

Coletor de fenda por impacto

Este sistema é constituído de uma entrada de ar, via fenda de 0,25 mm de largura por 27,5 mm de comprimento, arranjado de tal forma que as amostras de ar colidam radialmente em placa de Petri com meio de cultivo em ágar. A altura da placa é ajustável de forma que a fenda fique a uma distância que permita que todas as partículas se choquem com a superfície da placa que contém ágar nutriente.

Em um modelo recente, a placa gira em uma velocidade definida em determinado tempo. Esse sistema é desenhado para obter amostras de ar entre 30 L/min a 700 L/min. Isso significa que a placa exposta seguida de incubação permite a formação de um padrãoradial de contagem de colônias na qual a concentração do ar obtido no percurso do segmento radial pode ser correlacionada com a ação específica. A velocidade rotacional do coletor pode ser variada de forma que a placa que contém ágar nutriente possa ficar exposta por períodos de 0,5 a 15 minutos. Portanto, a exposição pode ser ajustada para a concentração esperada de organismos viáveis presentes nas partículas obtidas pela colheita do ar, pela alteração da velocidade rotacional.

O coletor de fenda é largamente utilizado em salas limpas para quantificar o conteúdo de microrganismos no ar, que são utilizados em fábricas de produtos farmacêuticos. Esse dispositivo é também utilizado para testar a integridade dos filtros HEPA e seus selos para cabines de segurança microbiológica e salas de contenção. Nessas salas, submete-se à aerolização de microrganismo. Uma sonda é ligada ao monitor do mostrador de ar abaixo do fluxo de ar dos filtros submetidos a uma concentração bacteriana de 5×10^7 cfu/mm^3 de *B. subtilis var. siger* (esporos) aerolizados. A sensibilidade desse método é muito alta com penetração de partículas menores de 0,00002%, o que representa que é cem vezes mais que a sensibilidade da medida feita com método de desafio, utilizando-se fumaça ou cristal de NaCl aerolizado. A sonda ligada com o coletor de fenda pode ser também usada para detectar vazamento em torno dos selos, janelas e cabos de penetração em CSB classe 3, durante sua inspeção. Isto é realizado pela injeção de esporos de B. *subtilis* aerolizado dentro da cabine pressurizada. A posição de qualquer vazamento pode ser localizada se o padrão de colônia na placa estiver correlacionado com a posição da amostra. Em várias circunstâncias em que ocorre a presença natural de aerossóis, com microrganismos, estes poderão estar altamente diluídos, necessitando de grandes volumes de ar para a recuperação de pequena quantidade de amostra viável. Isto significa que o monitoramento por coletores e outros métodos dos quais depende a coleta por

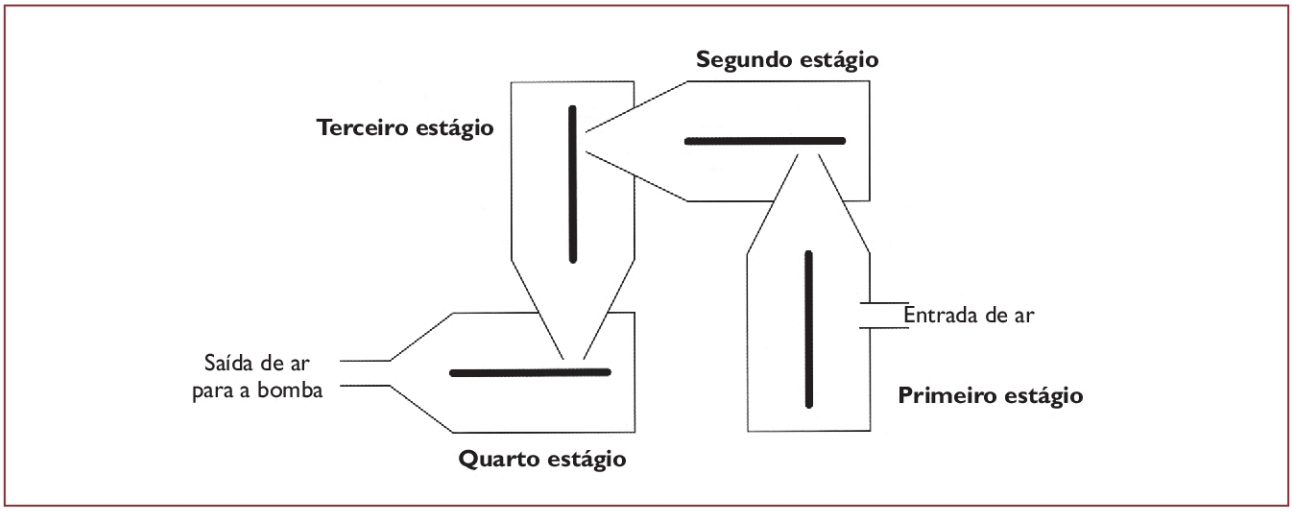


Figura 4. Esquema de um coletor por impacto em cascata.

impacto no gel, como no caso de coletor de Andersen, em que a perda de água e consequente perda de gel por desidratação, que pode inibir o crescimento bacteriano, deve ser rigorosamente controlado. A adição de oxietileno docosanol no ágar poderá prevenir a evaporação da água permitindo uma colheita mais prolongada, melhorando as condições de trabalho.

Coletor com placa perfurada de superfície para amostragem de ar

O coletor contém um sistema de aspiração por uma bomba através de uma placa perfurada, as partículas presentes na amostra de ar colidem em uma placa de 55 mm de diâmetro. O coletor é relativamente ineficiente para coleta de partículas menores que 2 mm de diâmetro, mas tem a vantagem de ser portátil e obter amostra nos locais de trabalho. Foi também desenvolvido um sistema de múltiplo estágio que é utilizado em teatros, áreas estéreis e ambientes controlados. Versões posteriores apresentam programações que permitem colheitas sem intervenção direta do operador.

Coletor centrífugo

O coletor por centrifugação permite que o ar entre no equipamento com movimento de forma circular, a qual resulta em uma efetiva massa concentrada onde qualquer partícula presente no ar se agrupa. Em um modelo tipo ciclone, o ar entra tangencialmente para o corpo do ciclone colidindo a uma velocidade tangencial que movimenta de forma circular. As partículas que entram colidem na parede do ciclone, concentrando-se no centro do dispositivo, e na extremidade oposta existe uma saída, onde está ligado a uma bomba de vácuo para aspirar o ar. Esse dispositivo desenvolvido por Errington & Powell[23] pode coletar de 75 a 350 L de ar por minuto. Uma versão maior fabricada pela Hampshire Glassware pode coletar até 700 litros de ar por minuto em um volume de líquido de 1 mL.

Um modelo desenvolvido com o mesmo princípio foi fabricado pela Biotest Ltda., Reino Unido. Observa-se que o ar coletado colide em quatro lâminas que possuem meios de cultura em tiras com ágar. Esse sistema também portátil permite amostra de diversos ambientes com variedade de bactérias, que possibilita identificação mediante a escolha dos meios de cultivo.

Coletor por filtração

É o método mais simples para obtenção de microrganismo do ar. A amostra é filtrada em membranas, medindo-se a quantidade obtida em relação ao tempo de colheita. Esses filtros podem ser de gelatina, celulose ou náilon, que contém poros cilíndricos uniformes. Os filtros de gelatina são muito utilizados, contêm poros de 3 μ de diâmetro, que é apropriado para a maioria das aplicações. As membranas de celulose com diâmetro de poros menores desenvolvidas pela Millipore também são opções viáveis. Os vários sistemas de filtração foram desenvolvidos por diversos fabricantes e apresentam resultados adequados mesmo para recuperar microrganismos vegetativos encontrados no ar. A amostra filtrada pode ser cultivada em muitos tipos de meio, podendo identificar qualquer tipo de microrganismo.

O critério de escolha deve contemplar a necessidade, o custo/benefício e a versatilidade de múltiplas aplicações. Os sistemas portáteis são hoje os mais recomendados, por ser de fácil manuseio e permitir fácil deslocamento, além de poder ser utilizados em controles de cabines de segurança biológica.

É importante ressalvar que o treinamento do operador deve ser contínuo, independentemente da escolha do sistema utilizado.

PROCEDIMENTOS DE DESCARTE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

Os produtos ou resíduos biológicos devem ser acondicionados e identificados antes de seu transporte e descarte[26,29].

Todo material biológico – esfregaços, culturas e recipientes – contaminados devem ser preferencialmente esterilizados antes do descarte ou reutilização.

Dentro da câmara de segurança tem de haver um recipiente com desinfetante para receber pipetas, alças e trituradores de tecidos.

Nenhum material deve sair do laboratório sem que esteja adequadamente embalado.

Em local bem próximo da câmara deve haver baldes de aço inoxidável com tampas, prontos para receber recipientes com espécimes e tubos com suspensões bacterianas.

Líquidos contaminados têm de ser desprezados em recipientes autoclaváveis.

A vidraria, sempre que possível, deve ser substituída por plásticos. Vidros quebrados precisam ser removidos com pás ou pinças e descontaminados antes do descarte.

NORMAS PARA DESCARTE DE PRODUTOS INFECCIOSOS

A Resolução Conama n. 5 de 1993 recomenda autoclavação ou incineração para tratamento de produtos infecciosos antes do descarte.

- Materiais perfurocortantes devem ser descartados logo após o uso em recipiente rígidos (tubos capilares, seringas, pipetas Pasteur de vidro, bisturis etc.). Com tampa e identificados no local de sua geração.

É expressamente proibido o esvaziamento desses recipientes para seu aproveitamento.

- As agulhas descartáveis devem ser desprezadas com as seringas, sendo proibido reencapá-las ou proceder à sua retirada manualmente. Caso seja indispensável, sua retirada só é permitida utilizando-se procedimento mecânico.
- O coletor deve estar próximo ao local de procedimento.
- Os tubos, as pipetas e outros materiais não descartáveis têm de ser colocados em recipientes plásticos com hipoclorito a 1%, sendo recolhidos periodicamente por funcionário treinado. Os coletores com hipoclorito devem permanecer tampados no setor (Figura 5). Após o prazo mínimo de 18 horas de mergulho completo dos materiais sólidos contaminados, estes devem ser retirados para incineração ou autoclavagem e os resíduos do desinfetante, dispensados na pia. Se forem materiais recicláveis, antes de voltar a ser utilizados devem ser lavados e reesterilizados.
- Todas as lixeiras do laboratório, com exceção da área administrativa, precisam conter sacos plásticos brancos leitosos, com espessura respeitando as exigências legais (ABNT, NBR 9091) e com símbolo da substância infectante.
- O recolhimento do material infectante deve ser realizado por funcionário treinado do serviço de limpeza, em carrinhos fechados e laváveis, sempre que necessário.

Identificação

A Norma NBR n. 12.808 de 1997 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) dispõe sobre a Classificação dos resíduos de serviço de saúde:

- Tipo A – resíduo biológico
- Tipo B – resíduo químico
- Tipo C – resíduo radioativo
- Tipo D – lixo comum

Para os resíduos do Grupo A, a identificação deve ser em rótulos de fundo branco, desenho e contornos pretos, com símbolo e a inscrição de Resíduo Biológico.

Os recipientes para os materiais perfurocortantes devem receber a inscrição de Perfurocortante e a indicação de acordo com sua contaminação: Resíduo Biológico, se a contaminação for biológica; Resíduo Tóxico, se a contaminação for química; e Rejeito Radioativo, se a contaminação for com elemento radioativo, devendo neste último conter também o nome do elemento radioativo, a indicação da meia-vida e a data de sua geração.

O conteúdo dos tubos (coágulo, sangue, soro) deve ser desprezado em recipiente ou suporte com saco para autoclaves, que deve permanecer fechado até sua retirada, para esterilização e posterior descarte.

DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO

Resíduos infectantes ou infecciosos gerados em laboratórios são os que contêm patógenos em quantidade e virulência tais que a exposição a eles, de hospedeiro suscetível, pode resultar em uma doença infecciosa.

Para descarte de produtos biológicos infectantes, em geral, adota-se algum sistema ou critério de identificação e separação, incluindo-se as respectivas embalagens. Nas Figuras 5 a 9 são apresentados vários tipos de recipientes para resíduos infectantes.



Figura 5. Descontaminação de pipetas e solução de hipoclorito a 1%.



Figura 6. Lixeira e resíduos não infectantes e recicláveis.



Figura 7. Lixeira para resíduo comum e para resíduo infectante.



Figura 8. Descarte de material perfurocortante.



Figura 9. Lixeiras para contenção de resíduos anatômicos (tecidos humanos ou de animais).

Procedimentos para descarte definitivo

Todo material infectante deve ser autoclavado antes de se tentar qualquer limpeza ou reparo (Figura 10).



Figura 10. Autoclave.

Todas as culturas e materiais contaminados normalmente devem ser autoclavados em embalagens à prova de vazamento, ou seja, em sacos plásticos autoclaváveis que possam ser identificados (coloração codificada), antes de ser eliminados (Figura 11).

Após a autoclavação, o material poderá ser colocado em recipiente destinado ao transporte até o incinerador ou outro tratamento de lixo (Figura 12).

Incineração é o método de escolha para o tratamento definitivo de resíduo infectante, inclusive de carcaças de animais de laboratório, de preferência após serem autoclavados.

A incineração do resíduo infectante depende da aprovação pelas autoridades responsáveis pela saúde pública e pela poluição do ar, além da aprovação pela Comissão de Biossegurança. Caso contrário, outras alternativas de senso comum devem ser procuradas.



Figura 11. Recipiente para autoclavação de resíduo infectante.



Figura 12. Transporte de resíduo infectante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Classificação de risco dos agentes biológicos. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
2. Grist NR. Manual de biossegurança. São Paulo: Santos, 1995.
3. Ferreira JA. Resíduos de laboratório. In: Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fio-Cruz; 1998. p.191-208.
4. Hirata MH, Mancini Filho J. Manual de biossegurança. Barueri: Manole, 2002.
5. Pike RM. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes and prevention. Annu Rev Microbiol. 1979;33:41-66.
6. Kenny MT, Sabel FL. Particle size distribution of Serratia marcescens aerosols creted during common laboratory procedures and simulated laboratory accidents. Appl Microbiol. 1968;16:1146-50.
7. Wedum AG, Barkley WE, Hellman A. Handling of infectious agents. J Am Vet Med Assoc. 1972;161(11):1557-67.
8. Reid DD. Incidence of tuberculosis among workers in medical laboratories. Br Med J. 1957; (5035):10-4.
9. Richmond JY, Knudsen RC, Good RC. Biosafety in the clinical mycobacteriology laboratory. Clin Lab Med. 16:527-50, 1996.
10. Centers for Disease Control and Prevention [www.cdc.gov]. Atlanta: The Centers for Disease Control and Prevention; [updated 2009]. Available from: http://www.cdc.gov/hicpac/pubs.html
11. Krause J, McDonnell G, Riedesel H. Biodecontamination of animal rooms and heat-sensitive equipment with vaporized hydrogen peroxide. Contemp Top Lab Anim Sci. 2001;40:18-21.
12. Spaulding EH. Chemical disinfection and antisepsis in the hospital. J Hosp Res. 1972;(9): 5-31.
13. Fink R, Liberman DF, Murphy K, Lupo D, Israeli E. Biological safety cabinets, decontamination or sterilization with paraformaldehyde. Am Ind Hyg Assoc J. 1988;49:277-9.
14. Fleming DO, Hunt DL. Biological safety. Principles and Pratices. 3. ed. Washington, DC: ASM Press; 2000.
15. Knapp JE, Battisti DL. Chlorine Dioxide. In: Block S, editor. Disinfection, sterilization, and preservation. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 215-27.
16. Harper GJ. Contamination of the environmental by special purpose centrifuges used in clinical laboratories. J Clin Pathol. 1981;34:1114-23.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde/Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
18. Cox CS. The aerobiological pathway of micro-organism. Chester, Nova York, Brisbane, Toronto: J Wiley & Sons; 1987.
19. Benbough JE, Hambleton P. Structural, organizational and functional changes associated with envelopment of bacterial sampled from aerossols In: Hers JF, Winkler KC, editors. Fourth International Symposium on Aerobiology. Oosthoeck: Ultrecht, The Znetherlands; 1973. p. 135-7.
20. May KR, Harper GJ. The efficiency pf various liquid impingers in bacterial aerosols. Brit J Industrila Med. 1957;14:187-97.
21. Andersen A. New sampler for the collection, sizing and enumerataion of viable airbone particles. J Bact. 1958;76:471-84.
22. Zimmerman NJ, Reist PC, Turner AG. Comparison of two biological aerosol sampling methods. Appl Environ Microbiol. 1987;53(1):99-104.
23. Errinton FP, Powell EO. A cyclone separator for aerosol sampling in the field. J Hyg Camb. 1969;67:387-99.
24. Favero M, Bond W. Chemical disinfection of medical surgical material. In: Block S, editor. Disinfection, sterilization, and preservation. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 881-917.

25. Klapes NA, Vesley D. Vapor-phase hydrogen peroxide as a surface decontaminant and sterilant. Appl Environ Microbiol. 1990;56:503-6.
26. Regulamento Técnico sobre Diretrizes Gerais para Procedimento e Manejo de Resíduos de Serviços de Saúde (proposta da ANVS – Agência Nacional de Vigilância Sanitária para Consulta Pública – publ. 29.6.2000).
27. Rusnak JM, Kortepeter M, Ulrich R, et al. Laboratory exposures to Staphylococcal enterotoxin B. Emerg Infect Dis. 2004;10:1544-9.
28. Richmond JY, Knudsen RC, Good RC. Biosafety in the clinical mycobacteriology laboratory. Clin Lab Med. 1996;16:527-50.
29. Riscos Biológicos. Guia técnico Os riscos biológicos no âmbito da Norma Regulamentadora n. 32, Brasília, 2008.
30. Vesley D, Lauer J, Hawley R. Decontamination, sterilization, disinfection, and antisepsis. In: Fleming DO, Hunt DL, editors. Laboratory safety: principles and practices. 3. ed. Washington, DC: ASM Press; 2001. p. 383-402.

capítulo 5

Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos

Mauri Sergio Alves Palma
Patricia Busko Di Vitta

DEDICATÓRIA

Dedicamos este capítulo ao Prof. Dr. Orlando Zancanaro Júnior que foi um dos pioneiros da sistematização do manuseio, coleta, armazenamento, descarte e destinação de resíduos na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, sendo ainda um grande disseminador da conscientização da necessidade de se tratar o meio ambiente de forma adequada e preservá-lo para as futuras gerações. Por esse motivo, ao revisarmos este capítulo, mantivemos vários trechos originais da primeira edição deste manual, que era de autoria do Prof. Dr. Orlando Zancanaro Júnior.

INTRODUÇÃO

Segundo a Lei n. 12.305, de 2 de agosto de 2010, rejeitos são "resíduos sólidos que, depois de esgotadas todas as possibilidades de tratamento e recuperação por processos tecnológicos disponíveis e economicamente viáveis, não apresentem outra possibilidade que não a disposição final ambientalmente adequada". Segundo essa mesma lei, resíduos sólidos "são material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis em face da melhor tecnologia disponível".

Desde a década de 1990 houve uma melhoria significativa da consciência e da atuação em busca de uma melhor utilização de materiais e da gestão adequada de resíduos perigosos no setor industrial e no setor acadêmico como consequência da maior atuação dos órgãos ambientais estaduais.

O manuseio adequado de produtos químicos em laboratórios didáticos e de pesquisa, bem como o armazenamento adequado dos resíduos gerados, é uma premissa para a segurança pessoal e patrimonial e preservação do meio ambiente.

A legislação evoluiu muito desde a década de 1980 em decorrência da atuação dos órgãos estaduais de controle e fiscalização e dos profissionais da área, cada vez mais conscientes de sua responsabilidade social. No entanto, é preciso considerar uma particularidade das atividades didáticas e de pesquisa, que é a alta rotatividade de pessoal. Alunos de graduação realizando estágios de iniciação científica em laboratórios de pesquisa, mestrandos, doutorandos e pós-doutorandos desenvolvem suas atividades por tempo determinado e usualmente curto, variando de meses a 4 ou 5 anos.

O corpo técnico também é renovado periodicamente e, assim, todos os envolvidos no manuseio de produtos químicos devem ser treinados com frequência tanto com o objetivo de iniciá-los nas novas tarefas quanto com o objetivo de reciclar seus conhecimentos.

Para a implantação de um programa de gerenciamento de resíduos químicos, perigosos ou não, é fundamental o envolvimento da instituição, disponibilizando a infraestrutura adequada, recursos financeiros suficientes e um responsável qualificado e competente.

Neste capítulo será abordada a legislação vigente sobre resíduos, simbologia para recipientes, rotulagem e identificação, incompatibilidade de produtos químicos, armazenamento, medidas de emergência no derramamento, periculosidade dos íons mais comuns, procedimentos para tratamento de resíduos, recuperação de solventes, tratamento de gases e vapores, destinação de embalagens e recipientes, gerenciamento de passivos e disposição final em aterros e incineração.

O presente capítulo tem ainda a pretensão de fornecer informações e princípios básicos sobre o gerenciamento de resíduos classificados como químicos, perigosos e não perigosos, além de destacar a importância de avançar no assunto, sobretudo quanto à elaboração de métodos para minimizar a geração de materiais a serem descartados, à utilização de produtos com menor periculosidade possível e ao desenvolvimento de protocolos práticos e facilmente utilizáveis para eliminação absolutamente segura de cada resíduo perigoso gerado.

LEGISLAÇÃO E NORMATIZAÇÃO

A norma NBR 10004, de novembro de 2004, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), define, classifica e lista os resíduos sólidos, servindo de norma e dando respaldo técnico a leis nos três níveis de governo (federal, estadual e municipal), assim como a resoluções, classificações, definições etc.

Segundo a NBR 10004, os resíduos classificam-se em:

a. Classe I – perigosos
b. Classe II – não perigosos
   - Classe II A – não inertes
   - Classe II B – inertes

Ficam então definidos os riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública.

O setor industrial utiliza-se dessa classificação, enquanto os serviços de saúde (dentro do qual alguns setores do ensino e da pesquisa se enquadram) são disciplinados em relação aos seus resíduos pela classificação adotada e baseada na Resolução n. 358, de abril de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama), que, por sua vez, é fundamentada na NBR 10004 da ABNT.

Segundo essa classificação os resíduos sólidos são agrupados em:

- Grupo A – resíduos biológicos ou contaminados por agentes biológicos
- Grupo B – resíduos químicos ou contaminados por químicos perigosos
- Grupo C – rejeitos radioativos
- Grupo D – resíduos comuns
- Grupo E – materiais perfurocortantes

Competem ao Setor de Vigilância Sanitária das Secretarias de Saúde estaduais ou municipais (Vigilância Sanitária) e aos órgãos de meio ambiente e limpeza pública o cumprimento, a divulgação e a orientação dessa Resolução.

Na prática, o órgão de limpeza pública recusa-se a executar os serviços de coleta ante uma irregularidade e comunica a Vigilância Sanitária para autuação do infrator. Observa-se então que, para enquadramento e aplicação da lei, deve-se utilizar sempre a normatização mais restritiva, que é, portanto, a municipal seguida da estadual e por fim da federal.

Ainda quanto a essa classificação, as normas da ABNT servem para embasamentos tanto para a aplicação da lei quanto para a defesa dos infratores, sem, entretanto, força de lei ou de resolução.

No caso das instituições de ensino e pesquisa, é necessário o conhecimento das duas classificações (NBR 10004 da ABNT e Resolução n. 358 do Conama), já que são utilizados reagentes e produtos classificados como perigosos que geram resíduos também perigosos, perfeitamente enquadrados na Classe I à semelhança de uma atividade industrial, mas também há a geração de resíduos de saúde característicos da atividade hospitalar e nesse caso regulamentada pelo Conama. Os resíduos e rejeitos de aulas experimentais também devem ser tratados adequadamente[1]. Os critérios e as concentrações máximas de poluentes permitidas em efluentes líquidos industriais (nas quais se incluem as atividades desenvolvidas em laboratórios de ensino e de pesquisa) para lançamento no sistema coletor público de esgoto sanitário estão descritos pela norma NBR 9800, de abril de 1987, pela Resolução Conama n. 357, de 17 de março de 2005, e pelo decreto do Estado de São Paulo DE n. 8.468, de 8 de setembro de 1976.

A título de ilustração, no caso da cidade de São Paulo, onde funciona adequadamente o trabalho de coleta dos resíduos de serviços de saúde (RSS), o gerenciamento fica a cargo do Departamento de Limpeza Urbana (LIMPURB) do Município de São Paulo. Esse órgão executa o trabalho de rotina, disciplinado por normas por ele mesmo preestabelecidas (baseadas na Resolução n. 358 do Conama), e os casos especiais devem ser tratados também de forma especial (p. ex., a coleta de um lote de medicamentos inadequados ao consumo).

A coleta é feita por empresas concessionárias, e o órgão se reserva o direito de não coletar os resíduos de estabelecimentos que não cumprirem as determinações e normas em vigor e se propõe a comunicar o órgão ambiental competente, o Centro de Vigilância Sanitária e o Ministério Público, para efeito do cumprimento da lei específica e aplicação das sanções cabíveis.

De particular interesse para o setor farmacêutico são os medicamentos vencidos, adulterados ou inapropriados para consumo. Nesse caso, eles são considerados resíduos químicos do Grupo B, segundo a Resolução Conama n. 358, de 29 de abril de 2005, Resolução Conjunta SS/SMA/SJDC n. 1, de 29 de junho de 1998, e Norma P4.262, de dezembro de 2003 do estado de São Paulo, e devem ser tratados de forma adequada antes de serem descartados. No estado de São Paulo, deve-se ainda obedecer às determinações da Norma Técnica sobre Gerenciamento de Resíduos Perigosos de Medicamentos em Serviços de Saúde, Portaria CVS n. 21, de 10 de setembro de 2008.

A prefeitura da cidade de São Paulo pretende criar, por meio do Projeto de Lei n. 176/11, o Programa Municipal de Medicamentos vencidos, com a finalidade de conscientizar a população a descartar tais resíduos em local apropriado.

Ante o assombroso número de milhões de substâncias químicas conhecidas, das quais cerca de 130 mil têm algum tipo de periculosidade e pouco mais de 200 apresentam método do descarte adequado, outras entidades, conselhos e sindicatos também atuam para colaborar com a diminuição de riscos por meio da melhoria na segurança química, sempre com base nas normas da ABNT.

Deve-se mencionar que a insalubridade das atividades e operações em ambientes industriais, de ensino e de pesquisa é definida pela norma regulamentadora n. 15 (NR 15) publicada pelo Ministério do Trabalho e Emprego de 6 de julho de 1978, a qual teve várias atualizações, sendo a última em 28 de janeiro de 2011.

Sem o temor de estar sendo repetitivo, fica clara a necessidade de uma maior participação do setor acadêmico e da pesquisa para ajudar a aprimorar normas, classificações e definições, assim como introduzir novos conhecimentos, conceitos, técnicas e filosofias, visando ao gerenciamento mais adequado possível dos materiais perigosos em todas as etapas que envolvem sua manipulação, até o descarte final.

As leis e normas que contemplam o exposto são:

Federais

- Lei Federal n. 6.938, de 31 de agosto de 1981 (Política Nacional do Meio Ambiente), regulamentada pelo Decreto n. 99.274, de 6 de junho de 1990, modificada pela Lei Federal n. 7.804, de 18 de julho de 1989.
- Lei Federal n. 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 (Lei de Crimes Ambientais), regulamentada pelo Decreto n. 6.514, de 22 de julho de 2008.
- Lei Federal n. 12.305, de 2 de agosto de 2010 (Política Nacional de Resíduos Sólidos), regulamentada pelo Decreto Lei n. 7.404, de 2 de dezembro de 2010.
- Resolução Conama n. 6, de 19 de setembro de 1991 (Tratamento de Resíduos Sólidos provenientes de Estabelecimentos da Saúde, Portos e Aeroportos).
- Resolução Conama n. 357, de 17 de março de 2005 (Classificação dos Corpos de Água, Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes).
- Resolução Conama n. 358, de 29 de abril de 2005 (Tratamento e Disposição Final dos Resíduos dos Serviços de Saúde).
- Resolução Conama n. 397, de 3 de abril de 2008 (Altera a Resolução Conama n. 357).
- Resolução Conjunta SS/SMA/SJDC n. 1, de 29 de junho de 1998 (Aprova as Diretrizes Básicas e Regulamento Técnico para apresentação e aprovação do Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde).
- Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 306, de 7 de dezembro de 2004 (Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Estado de São Paulo

- Lei Estadual n. 997, de 31 de maio de 1976 (Prevenção e Controle da Poluição do Meio Ambiente), regulamentada pelo Decreto n. 8.468, de 08 de setembro de 1976. Atualizado com redação dada pelo Decreto n. 54.487, de 26 de junho de 2009.
- Lei Estadual n. 9.509, de 20 de março de 1997 (Dispõe sobre a Política Estadual do Meio Ambiente).
- Lei Estadual n. 12.300, de 16 de março de 2006 (Política Estadual de Resíduos Sólidos), regulamentada pelo Decreto n. 54.645, de 5 de agosto de 2009.

Município de São Paulo

- Projeto de Lei n. 176, de 14 de abril de 2011 (Criação do Banco do Lixo, Descarte de Lixo, Resíduos e Medicamentos).

Normas Técnicas

- Norma Regulamentadora n. 15 (NR 15), de 6 de julho de 1978 (Atividades e Operações Insalubres).
- Norma Brasileira ABNT NBR 9800, de abril de 1987 (Critérios para Lançamento de Efluentes Líquidos Industriais no Sistema Coletor Público de Esgoto Sanitário).
- Norma Brasileira ABNT NBR 10004, de 30 de novembro de 2004 (Resíduos Sólidos – Classificação).
- Norma Brasileira ABNT NBR 10005, de 30 de novembro de 2004 (Procedimentos para Obtenção de Extrato Lixiviado de Resíduos Sólidos).
- Norma Brasileira ABNT NBR 10006, de 30 de novembro de 2004 (Procedimentos para Obtenção de Extrato Solubilizado de Resíduos Sólidos).
- Norma Brasileira ABNT NBR 10007, de 30 de novembro de 2004 (Amostragem de Resíduos Sólidos).

- Norma P4.262, de dezembro de 2003 (Gerenciamento de Resíduos Químicos Provenientes de Estabelecimentos de Serviços de Saúde). Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb), ligada à Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo.

Sites com Legislações Ambientais
Federais

Presidência da República Federativa do Brasil – http://www.presidencia.gov.br

Ministério do Meio Ambiente – http://www.mma.gov.br

Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – http://www.anvisa.gov.br

Associação Brasileira de Normas técnicas – http://www.abnt.org.br

Estado de São Paulo

Cetesb – http://www.Cetesb.sp.gov.br

Secretaria do Meio Ambiente – http://www.ambiente.sp.gov.br

Município de São Paulo

Prefeitura de São Paulo – http://www.prefeitura.sp.gov.br

SEGURANÇA NO ARMAZENAMENTO E NO MANUSEIO DE PRODUTOS E RESÍDUOS QUÍMICOS

O armazenamento de substâncias químicas classificadas como perigosas requer atenção, treinamento e boas condições de trabalho. Há procedimentos que podem ser considerados gerais para promover a minimização dos riscos ao meio ambiente e à saúde pública, assim como há procedimentos específicos com os mesmos objetivos. Como procedimentos gerais destacam-se:

- Estocar respeitando a compatibilidade das substâncias químicas.
- Estocar em áreas bem ventiladas, protegidas de fontes de água, energia elétrica, luz, radiações e vibrações.
- Isolar grandes estoques.
- Isolar produtos inflamáveis, explosivos, cancerígenos e mutagênicos com odor agressivo e de toxicidade aguda. Os cancerígenos, mutagênicos e tóxicos fatais devem estar em armário especial trancado e devidamente sinalizado. Os produtos com odor agressivo devem estar em armários equipados com exaustor e os inflamáveis, em armários especiais para inflamáveis.
- Inspecionar periodicamente os estoques para evitar a presença de materiais vencidos ou em deterioração.
- Dedicar especial atenção a oxidantes, peróxidos, solventes, ácidos minerais fortes, metais alcalinos e substâncias peroxidáveis.
- Instalar cilindros de gás distante de outros materiais perigosos e em local seguro.
- Estocar em local com sinalização de risco, equipado com instalações elétricas à prova de explosão, extintores adequados e kits para conter possíveis derramamentos.
- Utilizar prateleiras largas, resistentes e seguras, de material compatível com as substâncias químicas a serem armazenadas e resistentes ao fogo.
- Não permitir a entrada de pessoas sem autorização.
- Não armazenar em ordem alfabética.
- Não armazenar produtos químicos em geladeiras de uso doméstico.

Os itens específicos relacionados a seguir também constituem importantes complementos de segurança, após ter-se seguido rigidamente a legislação vigente e as recomendações dos fabricantes em relação aos materiais estocados:

- Evitar a estocagem de materiais perigosos em quantidade muito acima da necessária e do suficiente para um período de atividade devidamente programado.
- Promover identificação com rotulagem adequada de todos os produtos químicos classificados como perigosos e não perigosos.
- Evitar o fracionamento de produtos dentro das áreas de estocagens, porém, se isso for estritamente necessário, utilizar equipamentos adequados para o procedimento (bandejas, sifões, espátulas, suportes, EPIs etc.).
- Evitar a estocagem de embalagens vazias ou de resíduos no setor de armazenamento de produtos químicos.
- Utilizar embalagens secundárias de segurança para os produtos de maior periculosidade e/ou em grandes volumes.
- Evitar a estocagem de materiais perigosos em posição muito alta em relação ao piso.
- Usar equipamentos adequados para movimentação dos materiais (carros, caixas, materiais amortecedores de choques, embalagens secundárias de proteção etc.).
- Monitorar o tipo de utilização das áreas externas às edificações destinadas às estocagens.
- O piso do armazém não deve ser escorregadio e precisa ser mantido sempre em perfeito estado de conservação.
- Os locais de carga e descarga têm de ser cobertos.
- O peso do material estocado deve ser compatível com a capacidade de carga calculada para o piso e prateleiras.

- O material armazenado não deve obstruir portas, circulação, iluminação, elevadores, saídas de emergências, extintores etc.
- As pilhas de materiais devem ficar a pelo menos 50 cm de distância entre si e das laterais do prédio e pelo menos a 1 m das luminárias.
- Não armazenar embalagens com qualquer tipo de dano.
- As embalagens nunca devem ficar diretamente em contato com o piso.
- As caixas com produtos líquidos devem ficar sempre com o fecho voltado para cima.
- Nunca colocar tambores ou baldes verticalmente sobre outros que estejam em posição horizontal.
- Jamais misturar produtos diferentes na mesma pilha.
- Cruzar os apoios das embalagens para promover autoamarração do conjunto.

Quanto ao manuseio de produtos químicos perigosos é recomendado:

- Ter conhecimento sobre o produto e as medidas de segurança específicas.
- Seguir rigorosamente as instruções dos rótulos e das FISPQS (Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico: possui 16 seções, cuja terminologia, numeração e sequência atendem à norma brasileira NBR 16725) de cada embalagem.
- Nunca encher completamente os recipientes.
- Ter conhecimento da compatibilidade dos materiais das embalagens com o produto contido.
- Evitar o contato de recipientes ou embalagens de composições diferentes.
- Impedir o arraste das embalagens.
- Sempre manter sob controle a oxidação dos recipientes metálicos.
- Conservar as embalagens originais ou transcrevê-las adequadamente na troca de recipiente.
- Manter o ambiente sempre ventilado durante as manipulações.
- Jamais utilizar a boca para sopros ou desentupimento de recipientes.
- Sempre usar equipamento de proteção, por mais simples que a operação possa parecer.
- Não modificar dosagens ou substituir reagentes por conta própria.
- Nunca reutilizar embalagens sem a certeza da compatibilidade do produto com possíveis resíduos.
- Não lavar equipamentos ou embalagens em cursos de águas, lagos ou diretamente no solo.
- Jamais comer, beber, fumar, conversar ou distrair-se de qualquer forma durante a manipulação dos materiais perigosos.
- Não utilizar a roupa usada na área de risco em outros ambientes. Lavá-la com frequência ou descartá-la como resíduo químico em caso de contaminação.
- Manipular substâncias de reconhecida alta periculosidade sempre na presença de um auxiliar qualificado e capacitado.

É importante lembrar que existem critérios legais para a construção e a operação de abrigos de resíduos. No estado de São Paulo, a Cetesb (Norma P4.262) estabelece que um abrigo de resíduos deve:

- Ser construído em alvenaria, fechado, dotado apenas de aberturas dispondo de telas metálicas que possibilitem uma área de ventilação adequada.
- Ser revestido internamente (piso e parede) com acabamento liso, resistente, lavável, impermeável e de cor clara.
- Ter porta com abertura para fora, dotada de proteção inferior, dificultando o acesso de insetos e animais.
- Ter piso cônico com declividade preferencialmente para o centro e sistema de contenção, que permita o acúmulo de no mínimo 10% do volume total de líquidos armazenados.
- Ter localização que permita facilidade de acesso e operação das coletas interna e externa.
- Possuir placa de identificação, indicando: Abrigo de Resíduos Perigosos – Produtos Químicos, em local de fácil visualização e sinalização de segurança que identifique a instalação quanto aos riscos de acesso ao local.
- Prever a blindagem dos pontos internos de energia elétrica, quando houver.
- Ter um dispositivo para evitar incidência direta de luz solar.
- Ter sistema de combate a princípio de incêndio por meio de extintores de CO_2 e PQS (Pó Químico Seco).
- Ter kit de emergência para os casos de derramamento ou vazamento, incluindo produtos absorventes.

Além disso, deve-se:

- Armazenar os resíduos constituídos de produtos perigosos corrosivos e inflamáveis próximos ao piso.
- Observar as medidas de segurança recomendadas para produtos químicos que podem formar peróxidos.
- Não receber nem armazenar resíduos sem identificação.
- Organizar o armazenamento de acordo com critérios de compatibilidade, conforme indicado na Ta-

bela n. 1 da NBR 12235, segregando os resíduos em bandejas.

- Manter registro dos resíduos recebidos.
- Manter o local trancado, impedindo o acesso de pessoas não autorizadas.

A movimentação dos resíduos químicos perigosos deve ser controlada. Por exemplo, no estado de São Paulo, o órgão ambiental recomenda a adoção de fichas, que devem ser mantidas em arquivo por um período de 5 anos, como as que se seguem (Figuras 1 e 2).

INCOMPATIBILIDADE DE PRODUTOS E RESÍDUOS QUÍMICOS

Incompatibilidade de produtos químicos

Apesar da aparência segura das embalagens dos produtos químicos, é preciso ter sempre em conta a alta periculosidade de muitos dos materiais ali contidos e as condições adversas de transporte a que foram submetidos, como altas temperaturas, choques, vibrações etc.,

CETESB/P4.262/dez-2003

NOME DO ESTABELECIMENTO	FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE RECEBIMENTO

DATA DO RECEBIMENTO DO RESÍDUO	QUANTIDADE	DESCRIÇÃO (COMPOSIÇÃO)	PERICULOSIDADE (VIDE LEGENDA)	NÚMERO DE CONTROLE DA EMBALAGEM	SETOR DE ORIGEM	RESPONSÁVEL PELA ENTREGA	RESPONSÁVEL PELO RECEBIMENTO	IDENTIFICAÇÃO DA EMBALAGEM PARA DESTINAÇÃO

OBSERVAÇÕES

LEGENDA
C-CORROSIVO
I-INFLAMÁVEL
R-REATIVO
T-TÓXICO

Figura 1. Ficha de acompanhamento de recebimento de resíduo segundo a Norma Cetesb P4.262.

CETESB/P4.262/dez-2003

NOME DO ESTABELECIMENTO	FICHA DE ACOMPANHAMENTO DA DESTINAÇÃO

IDENTIFICAÇÃO DA EMBALAGEM PARA DESTINAÇÃO	DATA DE SAÍDA	QUANTIDADE TOTAL DESCARTADA	PERICULOSIDADE (VIDE LEGENDA)	RESPONSÁVEL PELA ENTREGA	DESTINAÇÃO

OBSERVAÇÕES

LEGENDA
C-CORROSIVO
I-INFLAMÁVEL
R-REATIVO
T-TÓXICO

Figura 2. Ficha de acompanhamento de destinação de resíduo segundo a Norma Cetesb P4.26.

que podem ter provocado imperfeições nas embalagens que estão em contato direto com os produtos e possibilitar vazamentos; estes, por sua vez, podem potencializar acidentes, já que as substâncias químicas sempre possuem alguma característica de periculosidade (corrosiva, oxidante, inflamável etc.).

Nas áreas de estocagem ou armazenamento também estão sempre presentes os riscos de acidentes que podem expor os produtos, colocá-los em contato e possibilitar a liberação de seus potenciais de periculosidade. Assim, é importante a separação das substâncias chamadas incompatíveis.

Incompatibilidade química pode ser definida como uma característica inerente às substâncias que, quando em contato com outras, reagem entre si de maneira indesejada e descontrolada, resultando em uma explosão ou produção de gases altamente tóxicos ou inflamáveis.

Desse modo, substâncias incompatíveis devem ser separadas, mesmo que isso possa representar alto custo em decorrência da enorme quantidade de produtos existentes. Por exemplo, a separação por classes do tipo inflamáveis com inflamáveis, oxidantes com oxidantes, redutores com redutores e ácidos fortes com ácidos fortes etc. é sempre possível e com certeza diminui significativamente os riscos de acidentes graves como explosões, incêndios, intoxicações etc. O Quadro 1 e a Tabela 1 apresentadas a seguir[2] são clássicas e fornecem subsídios fundamentais para esse trabalho de separação.

Quadro 1. Incompatibilidade de algumas substâncias.

Substância	Incompatível com
Acetileno	Cloro, bromo, flúor, cobre (tubulações), prata, mercúrio e compostos.
Acetona	Misturas de ácidos sulfúrico e nítrico concentrados e peróxido de hidrogênio.
Ácido acético	Ácido crômico, ácido perclórico, peróxidos, permanganatos, ácido nítrico e etilenoglicol.
Ácido crômico	Ácido acético, naftaleno, cânfora, glicerol, terebentina, álcool e outros líquidos inflamáveis.
Ácido hidrociânico	Ácido nítrico e álcalis.
Ácido fluorídrico anidro, fluoreto de hidrogênio	Amônia (aquosa ou anidra).
Ácido nítrico concentrado	Ácido cianídrico, anilinas, óxidos de cromo VI, sulfeto de hidrogênio, líquidos e gases inflamáveis, ácido acético e ácido crômico.
Ácido oxálico	Prata e mercúrio.
Ácido perclórico	Anidrido acético, álcoois, bismuto e suas ligas, papel e madeira.
Ácido sulfúrico	Cloratos, percloratos, permanganatos e água.
Alquil alumínio	Água.
Amônia anidra	Mercúrio, cloro, hipoclorito de cálcio, iodo, bromo e ácido fluorídrico.
Anidrido acético	Compostos que contêm hidroxil, tais como etilenoglicol, e ácido perclórico.
Anilina	Ácido nítrico e peróxido de hidrogênio.
Azida sódica	Chumbo, cobre e outros metais.
Bromo e cloro	Benzeno, hidróxido de amônio, benzina de petróleo, hidrogênio, acetileno, etano, propano, butadienos e pós-metálicos.
Carvão ativo	Dicromatos, permanganatos, ácido nítrico, ácido sulfúrico e hipoclórico de cálcio.
Cloro	Amônia, acetleno, butadieno, butano, outros gases de petróleo, hidrogênio, carbeto de sódio, terebentina, benzeno e metais finamente divididos.
Cianetos	Ácidos e álcalis.
Clorato de potássio	Ácidos (ver também cloratos).
Cloratos e percloratos	Sais de amônio, ácidos, metais em pó, matérias orgânicas particuladas e combustíveis.
Cloro	Amoníaco, acetileno, hidrogênio, benzina e outras frações de petróleo.
Cobre metálico	Acetileno, peróxido de hidrogênio e azidas.
Dióxido de cloro	Amônia, metano, fósforo, sulfeto de hidrogênio.
Flúor	Isolado de tudo.
Fósforo	Enxofre, compostos oxigenados, cloratos, percloratos, nitratos e permanganatos.
Fósforo (branco)	Ar e oxigênio.

Continua

Quadro 1. Incompatibilidade de algumas substâncias (*continuação*).

Substância	Incompatível com
Halogênios	Amoníaco, acetileno e hidrocarbonetos.
Hidrazina	Peróxido de hidrogênio, ácido nítrico e outros oxidantes.
Hidrocarbonetos (butano, propano, tolueno etc.)	Ácido crômico, flúor, cloro, bromo e peróxidos.
Iodo	Acetileno, hidróxido de amônio e hidrogênio.
Líquidos inflamáveis (álcoois, cetonas e éteres)	Ácido nítrico, nitrato de amônio, óxido de cromo VI, peróxidos, flúor, cloro, bromo e hidrogênio.
Mercúrio	Acetileno, ácido fulmínico e amônia.
Metais alcalinos e alcalinos terrosos, tais como sódio, potássio, lítio, magnésio, cálcio e alumínio em pó	Dióxido de carbono, tetracloreto de carbono e outros hidrocarbonetos clorados (também é proibido o uso de água, espuma e extintores químicos secos sobre fogo envolvendo esses metais).
Nitrato de amônio	Ácidos, pós-metálicos, líquidos inflamáveis, cloretos, enxofre e compostos orgânicos em pó.
Nitrato de sódio	Nitrato de amônio e outros sais de amônio.
Nitroparafinas	Bases inorgânicas e aminas.
Óxido de cálcio	Água.
Óxido de cromo VI	Ácido acético, glicerina, benzina de petróleo, líquidos inflamáveis e naftaleno.
Oxigênio	Óleos, graxas, hidrogênio, líquidos, sólidos e gases inflamáveis.
Pentóxido de fósforo	Água, álcool e bases fortes.
Perclorato de potássio	Ácidos (ver também ácido perclórico).
Permanganato de potássio	Glicerina, etilenoglicol, ácido sulfúrico e benzaldeído.
Peróxido de hidrogênio	Álcoois, anilina, cobre, cromo, ferro, líquidos inflamáveis, sais metálicos, compostos orgânicos em pó, nitrometano e metais em pó.
Peróxido de sódio	Ácido acético, anidrido acético, benzaldeído, etanol, metanol, etilenoglicol, acetatos de metila e etila e furfural.
Prata metálica e sais de prata	Acetileno, ácido tartárico, ácido oxálico e compostos de amônio.
Sódio	Ver metais alcalinos.
Sulfeto de hidrogênio	Ácido nítrico fumegante e gases oxidantes.

Tabela 1. Inter-relação entre substâncias incompatíveis.

Número	Grupo químico	Incompatível com os grupos químicos representados pelos números listados na primeira coluna
1	Ácidos inorgânicos	2-8, 10,11,13, 14, 16-19, 21-23
2	Ácidos orgânicos	1, 3, 4, 7, 14,16-19, 22
3	Cáusticos	1, 2, 5, 7, 8, 13-18, 20, 22, 23
4	Aminas e aminas alifáticas	1, 2, 5, 7, 8, 13-18, 23
5	Compostos halogenados	1, 3, 4, 11, 14, 17
6	Álcoois, glicóis e éteres glicólicos	1, 7, 14, 16, 20, 23
7	Aldeídos	1-4, 6, 8, 15-17, 19, 20, 23
8	Cetonas	1, 3, 4, 7, 19, 20
9	Hidrocarbonetos saturados	20
10	Hidrocarbonetos aromáticos	1, 20
11	Olefinas	1, 5, 20
12	Óleos derivados do petróleo	20
13	Ésteres	1, 3, 4, 19, 20
14	Monômeros e ésteres polimerizáveis	1-6, 15, 16, 19-21, 23
15	Fenóis	3, 4, 7, 14, 16, 19, 20
16	Alquil óxidos	1-4, 6, 7, 14, 15 ,17-19, 23
17	Cianidrinas	1-5, 7, 16, 19,23
18	Nitrilas	1-4, 16, 23
19	Amônia	1-2, 7, 8, 13-17, 20, 23
20	Halogênios	3, 6 -15, 19, 21, 22
21	Éteres	1, 14, 20
22	Fósforo elementar	1-3, 20
23	Anidridos ácidos	1, 3, 4, 6, 7, 14, 16-19

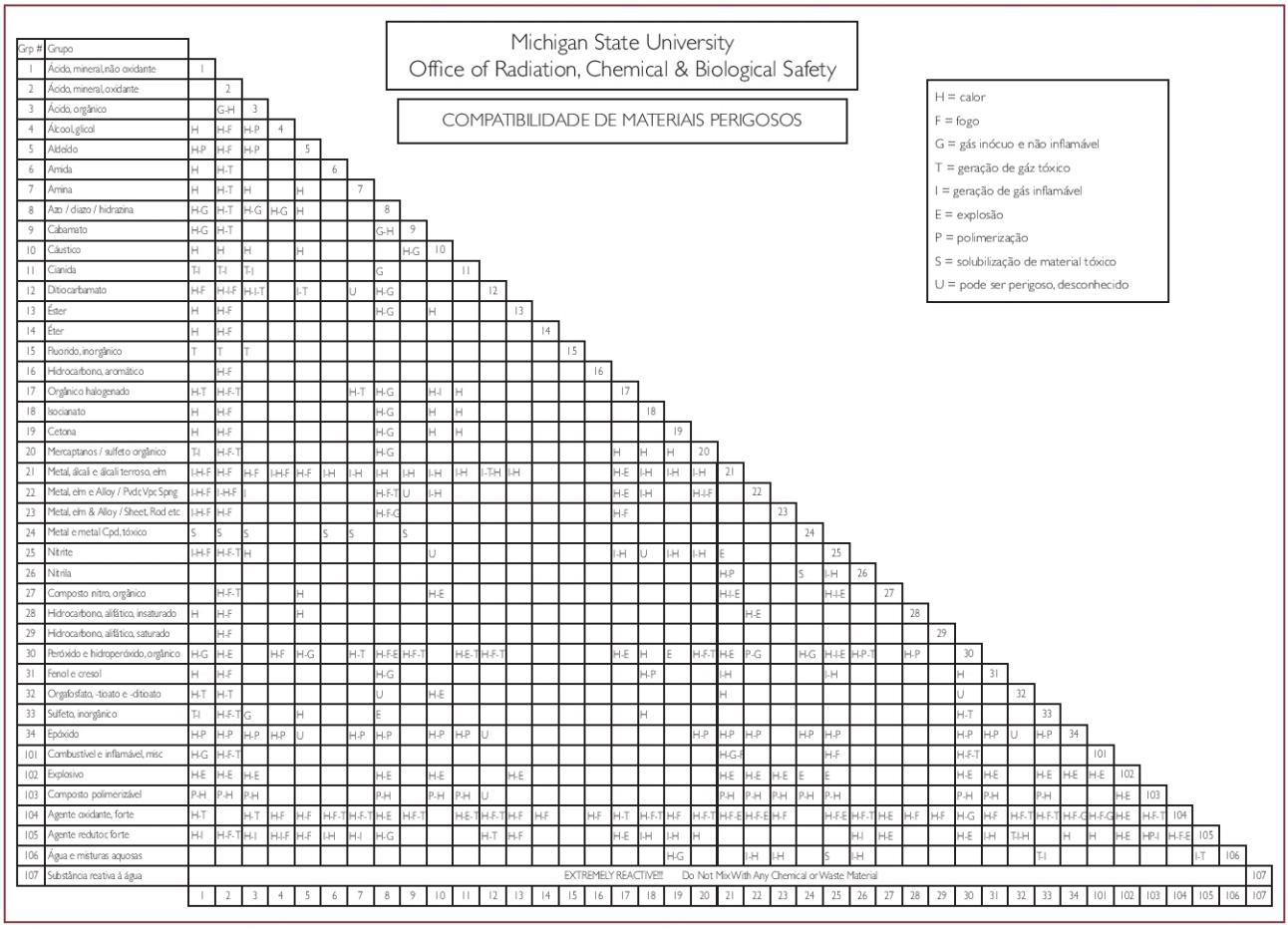


Figura 3 Compatibilidade química (Michigan State University, http://www.orcbs.msu.edu/chemical/resources_links/chemical_compatibility/compatchart.pdf).

Já a Figura 3 ilustra as consequências que podem ser esperadas quando da mistura de determinadas substâncias incompatíveis.

Incompatibilidade de resíduos químicos

Resíduos químicos podem ser coletados no mesmo recipiente, desde que sejam compatíveis entre si. Quando misturados, resíduos químicos incompatíveis podem produzir diferentes efeitos, tais como:

- Geração de calor e aumento de pressão;
- Fogo e explosão;
- Emissão de gases e vapores tóxicos e/ou inflamáveis.

É muito útil e segura a orientação[3] que propõe a divisão dos resíduos em dois grupos de materiais incompatíveis, A e B, e estabelece as possíveis consequências da mistura dos resíduos do Grupo A com os do Grupo B (Tabela 2).

PERICULOSIDADE DOS ÍONS MAIS COMUNS

Certos íons oferecem maiores riscos de acidentes porque, além de sua periculosidade, são mais frequentes nas atividades laboratoriais e industriais. Por isso, a divulgação constante de suas características nocivas e dos métodos de tratamento para neutralização desses efeitos é muito útil para diminuir os riscos à saúde e ao meio ambiente.

Os Quadros 2 e 3 mostram alguns desses íons e suas características de periculosidade, bem como os agentes de precipitação para aqueles passíveis de serem inertizados dessa forma[4].

Derramamento de Solventes

Os compostos orgânicos devem ser cuidadosamente armazenados e manuseados, por apresentarem características que os tornam bastante perigosos. Alguns solventes orgânicos, além de altamente inflamáveis, formam misturas explosivas com o ar atmosférico. Entre

Tabela 2. Incompatibilidade de resíduos subdivididos nos Grupos A e B, incompatíveis.

GRUPO 1	
Grupo 1-A	Grupo 1-B
Acetileno	Ácidos já utilizados
Águas residuárias alcalinas	Líquidos de decapagem
Bases já utilizadas	Lodo ácido
Líquidos alcalinos	Produtos de limpeza
Produtos de limpeza alcalinos	Soluções ácidas
Soluções alcalinas de baterias	Soluções ácidas de baterias
GRUPO 2	
Grupo 2-A	Grupo 2-B
Alumínio	
Berílio	
Cálcio	
Hidretos metálicos	
Lítio	Qualquer resíduo classificado
Magnésio	no Grupo 1-A ou Grupo 1-B
Metais reativos	
Potássio	
Sódio	
Zinco em pó	
GRUPO 3	
Grupo 3-A	Grupo 3-B
Água	Hidretos metálicos
Álcoois	Cálcio, lítio, potássio
	SO_2Cl_2, $SOCl_2$, PCl_3, $SiCl_3$
	Resíduos dos Grupos 1-A e 1-B

GRUPO 4	
Grupo 4-A	Grupo 4-B
Álcoois	
Aldeídos	Resíduos classificados nos Grupos
Compostos orgânicos halogenados	1-A, 1-B e 2-A
Compostos orgânicos nitrogenados	
Hidrocarbonetos insaturados	
Solventes orgânicos	
GRUPO 5	
Grupo 5-A	Grupo 5-B
Cianetos	Resíduos classificados no Grupo 1-B
Sulfetos	
GRUPO 6	
Grupo 6-A	Grupo 6-B
Ácido crômico	Ácido acético e outros ácidos orgânicos
Ácido nítrico fumegante	Cloritos
Ácidos minerais concentrados	Resíduos classificados nos Grupos 2-A e 4-A
Cloratos	Resíduos inflamáveis e combustíveis
Cloro	
Hipoclorito	
Nitratos	
Oxidantes enérgicos	
Percloratos	
Permanganatos	
Peróxidos	

Resíduos dos grupos 1-A e 1-B, quando misturados, podem gerar calor e reações violentas.
Resíduos dos grupos 2-A e 2-B, quando misturados, podem gerar fogo, explosão e gás inflamável (hidrogênio).
Resíduos dos Grupos 3-A e 3-B, quando misturados, podem gerar calor, fogo, explodão, geração de gases inflamáveis e/ou tóxicos.
Resíduos dos Grupos 4-A e 4-B, quando misturados, podem gerar reações violentas, fogo e explosão.
Resíduos dos Grupos 5-A e 5-B, quando misturados, geram gases tóxicos como cianeto de hidrogênio e sulfeto de hidrogênio.
Resíduos dos Grupos 6-A e 6-B, quando misturados, podem gerar reações violentas, fogo e explosão.

eles, os mais comuns são: benzeno, etanol, metanol, tolueno, éter etílico, acetona e nitrobenzeno.

Tetracloreto de carbono, tricloroeteno e clorofórmio, embora não inflamáveis, liberam fumos altamente tóxicos quando aquecidos[5].

É preciso estar sempre alerta para o potencial carcinogênico dos seguintes organoclorados: clorofórmio, tetracloreto de carbono, tricloroetileno, tetracloroetileno, 1,2-dicloroetano, 1,1,2,2-tetracloroetano[6].

Alguns produtos tóxicos agem de imediato sobre certo órgão ou tecido do organismo, produzindo alterações que desaparecem quando o agente tóxico é afastado. Um novo contato determina a repetição das alterações e assim por diante. Essa característica permite estabelecer a relação dose/resposta tóxica[7].

Os agentes carcinogênicos agem de forma diferente, determinando uma ação permanente em certo número de células, e à medida que novas doses se adicionam, mais alterações surgem, até o aparecimento de uma área neoplásica. Desse modo, não é possível determinar a dose de um agente químico capaz de induzir a formação de tumores.

Diante de tais fatos, todas as precauções possíveis devem ser tomadas em relação a esses agentes químicos

Quadro 2. Grau de periculosidade dos ânions mais comuns.

Íon	Característica	Precipitar com	Íon	Característica	Precipitar com
Amida ou amideto	Inflamável, explosivo		Hidroperóxido	Oxidante, explosivo	
Arsenato	Tóxico	Cobre, ferro	Hidrogenosulfeto	Tóxico	
Arsenito	Tóxico	Chumbo	Hipoclorito	Oxidante	
Azida	Explosivo, tóxico		Iodato	Oxidante, explosivo	
Boroidreto	Inflamável		Nitrato	Oxidante	
Bromato	Oxidante, explosivo		Nitrito	Tóxico, oxidante	
Clorato	Oxidante, explosivo		Perclorato	Oxidante, explosivo	
Cromato	Tóxico, oxidante		Permanganato	Tóxico, explosivo	
Cianeto	Tóxico		Peróxido	Oxidante, explosivo	
Ferricianeto	Tóxico	Ferro (II)	Persulfato	Oxidante	
Ferrocianeto	Tóxico	Ferro (III)	Selenato	Tóxico	Chumbo
Fluoreto	Tóxico	Cálcio	Seleneto	Tóxico	Cobre
Hidreto	Inflamável		Sulfeto	Tóxico	

Quadro 3. Toxicidade dos cátions mais comuns.

Muito tóxico	Precipitar com	Pouco tóxico	Precipitar com
Antimônio	OH^{-1}, S^{-2}	Alumínio	OH^{-1}
Arsênio	S^{-2}	Bismuto	OH^{-1}, S^{-2}
Bário	OH^{-1}, S^{-2}	Cálcio	OH^{-1}, S^{-2}
Berilo	OH^{-1}	Cério	OH^{-1}
Cádmio	OH^{-1}, S^{-2}	Césio	
Crômio (III)	OH^{-1}	Cobre	OH^{-1}
Chumbo	OH^{-1}, S^{-2}	Estrôncio	
Cobalto (II)	OH^{-1}	Estanho	OH^{-1}, S^{-2}
Gálio	OH^{-1}	Ferro	OH^{-1}, S^{-2}
Germânio	OH^{-1}, S^{-2}	Ítrio	OH^{-1}
Háfnio	OH^{-1}	Lantanídeos	OH^{-1}
Índio	OH^{-1}, S^{-2}	Lítio	
Irídio	OH^{-1}, S^{-2}	Magnésio	OH^{-1}
Manganês	OH^{-1}, S^{-2}	Molibdênio (IV)	
Mercúrio	OH^{-1}, S^{-2}	Nióbio	OH^{-1}
Níquel	OH^{-1}, S^{-2}	Ouro	OH^{-1}, S^{-2}
Ósmio (IV)*	OH^{-1}, S^{-2}	Paládio	OH^{-1}, S^{-2}
Platina (II)	OH^{-1}, S^{-2}	Potássio	
Prata	Cl^{-1}, OH^{-1}, S^{-2}	Rubídio	
Rênio (VII)	S^{-2}	Sódio	
Ródio (III)	OH^{-1}, S^{-2}	Tântalo	OH^{-1}
Rutênio (III)	OH^{-1}, S^{-2}	Titânio	OH^{-1}
Selênio	OH^{-1}	Zinco	OH^{-1}, S^{-2}
Tálio	OH^{-1}, S^{-2}	Zircônio	OH^{-1}
Telúrio	OH^{-1}	Escândio	OH^{-1}
Tungstênio		Vanádio	OH^{-1}, S^{-2}

*Óxido de ósmio forma compostos extremaente tóxicos e voláteis.

de alto risco. Para os pequenos acidentes de laboratório, algumas providências imediatas podem ser adotadas a fim de resolver a situação emergencial e evitar danos maiores. Em caso de pequenos derramamentos de acetato de etila, acetona, benzeno, etanol, éter etílico, metanol, nitrobenzeno, piridina, sulfeto de carbono, tolueno e xileno, deve-se absorver o solvente com um material inerte, como areia seca, terra seca, vermiculita, bentonita (areia sanitária ou higiênica), absorvedor químico ou ainda uma mistura 1:1:1 de carbonato de sódio ou cálcio, bentonita e areia seca. A massa resultante deve ser colocada em um recipiente adequado para posteriormente ser enviada para incineração. Em nenhum caso deve-se utilizar serragem ou jogar o solvente na rede de esgoto. Em caso de pequenos focos de fogo, extintores de gás carbônico ou pó químico seco podem ser utilizados. Alguns cuidados devem ser tomados no caso de fogo em metanol e sulfeto de carbono, já que a combustão desses materiais pode liberar monóxido de carbono, além de formaldeído e SO_2, respectivamente.

As mesmas providências podem ser adotadas no caso de pequenos derramamentos ou pequenos focos de fogo com substâncias organocloradas, como clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono e tricloroeteno. No caso do *p*-dicloro-benzeno, pequenos derramamentos devem ser tratados umedecendo o material com água para reduzir a poeira no ar e recolhendo em embalagem adequada para posteriormente ser enviado para incineração. Cuidados adicionais devem ser tomados, já que a combustão de solventes clorados pode liberar fosgênio, além de gás clorídrico nos casos de *p*-dicloro-benzeno, diclorometano e tricloroeteno e de monóxido de carbono nos casos de diclorometano e tricloroeteno.

Para todos os solventes citados, após a retirada do material absorvente, o local deve ser lavado com muita água e detergente biodegradável.

Gerenciamento de produtos e resíduos químicos

O gerenciamento de materiais classificados como perigosos depende de um programa bem definido que seja claro em seus objetivos e de entendimento e funcionamento simples.

A divulgação dos objetivos, dos trabalhos realizados e dos progressos alcançados deve ser precisa, frequente e ter linguagem acessível. O cronograma das atividades também tem de ser planejado e prático, sobretudo em relação aos dias de coleta e ao cumprimento das etapas estabelecidas.

É importante não deixar pendências, principalmente respostas a um problema específico ou disposição adequada de um material perigoso disponibilizado para descarte ou reciclagem.

O gerenciamento de resíduos é um trabalho que se torna cada vez mais importante. Por isso, o trabalho de esclarecimento e sensibilização, somado à praticidade e à objetividade, é fundamental para a implantação e o bom funcionamento dessa tarefa para o meio ambiente e para a saúde pública.

Em particular, o gerenciamento de resíduos nas atividades farmacêuticas de preparação e dosagem de medicamentos foi descrito detalhadamente por Azevedo e Spalding[8].

Gil et al.[9] fizeram uma revisão da literatura, até então, sobre os aspectos técnicos e legais do gerenciamento de resíduos químico-farmacêuticos em indústrias e laboratórios de ensino e pesquisa.

Aquisição de produtos químicos

A reposição de materiais no laboratório deve ser feita obedecendo-se a alguns critérios[10]. Assim, é importante:

- manter um cadastro dos principais fornecedores;
- manter o controle de estoque atualizado;
- verificar a possibilidade de manter uma rede de informações, de modo que possa ocorrer um intercâmbio de produtos químicos entre os diversos laboratórios da instituição;
- comprar o produto químico em falta somente após verificar que ele não está disponível em nenhum outro laboratório;
- comprar apenas o necessário para a utilização em atividades a serem desenvolvidas em um período de tempo determinado;
- aceitar apenas doações absolutamente necessárias, conhecidas e em condições de uso;
- disponibilizar as sobras de reagentes para evitar vencimento do prazo de validade;
- fornecer ao setor competente dados para relatórios referentes a Produtos Controlados pela Polícia Civil e Federal e pelo Ministério do Exército.

Inventário

É importante realizar um levantamento de todos os produtos químicos existentes no laboratório e em almoxarifados, isto é, fazer um inventário para saber quais e em que quantidade os produtos químicos estão disponíveis na instituição.

Algumas recomendações devem ser seguidas quando da realização do inventário:

- O produto deve ser catalogado por seu nome completo. Misturas devem ser catalogadas com informações sobre seus componentes e concentrações.

- Antes de remover um frasco, observar o rótulo do produto e verificar as propriedades físicas e as recomendações de segurança para a manipulação do material.
- Frascos de produtos químicos com rótulos em boas condições e dentro do prazo de validade devem ser cadastrados com o maior número possível de informações.
- Frascos sem rótulo, com identificação precária ou com propriedades físicas diferentes das descritas na literatura, devem ser manuseados com cuidado, pois podem conter peróxidos ou materiais explosivos. Além disso, precisam ser armazenados para posterior identificação e descarte.
- Frascos com substâncias explosivas, como picratos, azidas ou ácido pícrico seco, entre outras, devem ser manipulados com cuidado e por uma pessoa devidamente treinada e protegida.
- Frascos com substâncias que podem ser explosivas após o prazo de validade, como estireno, acetato de vinila ou butadieno, entre outras, devem ser manipulados com cuidado e por uma pessoa devidamente treinada e protegida.
- Frascos com substâncias que possuem riscos elevados de formação de peróxidos nos processos de concentração por exposição ao ar durante estocagem, como dioxano, éter isopropílico, potássio metálico e tetra-hidrofurano (THF), entre outras, devem ser manipulados com cuidado e por uma pessoa devidamente treinada e protegida.
- As quantidades devem ser estimadas em unidades de volume ou peso e não por frascos.
- Os prazos de validade devem ser anotados e respeitados. Assim, frascos de produtos químicos com prazos de validade vencidos precisam ser armazenados para posterior descarte, e frascos de produtos com vencimento próximo devem ser selecionados para utilização imediata.
- O inventário deve ser atualizado sempre que um produto for comprado, utilizado ou enviado para tratamento ou disposição.
- Recipientes com vazamentos devem ser substituídos ou reembalados.

Programa de intercâmbio de produtos químicos perigosos

Nas instituições, deve ser organizado um programa para estabelecer intercâmbio entre empresas e instituições, doações, permutas, recepção, recuperação e outros procedimentos que fazem uso de materiais químicos perigosos.

Treinamento e sensibilização

Todos que trabalham no laboratório e o utilizam devem ser sensibilizados quanto à responsabilidade diante da preservação do meio ambiente e da saúde pública[10]. Portanto:

- Os usuários do laboratório devem monitorar todas as atividades realizadas no laboratório, registrando todo o material que é utilizado e gerado em cada atividade desenvolvida.
- Os usuários do laboratório têm de estar conscientes de que o descarte e a prevenção da poluição devem fazer parte da prática experimental.
- Deve ser oferecido treinamento para os usuários do laboratório, quanto a métodos seguros de manuseio, armazenamento e descarte de materiais, a fim de prevenir o desperdício e acidentes como vazamentos, derramamentos e quebra de frascos e evitar a formação de mais resíduos a serem descartados.
- Deve existir uma equipe de segurança treinada para situações de emergências, como derramamentos, explosões, fogo e acidentes pessoais.

SEGREGAÇÃO DE RESÍDUOS QUÍMICOS

A segregação de resíduos tem como finalidade garantir a reutilização, a reciclagem e a segurança no manuseio. Os resíduos devem ser segregados na origem, de acordo com alguns critérios. O primeiro deles leva em consideração a periculosidade, conforme a norma ABNT NBR-10004. Assim, resíduos perigosos devem ser segregados dos não perigosos. Um segundo critério a ser considerado é o estado físico. Em função dele, resíduos sólidos, líquidos e gasosos devem ser separados. Além disso, deve-se respeitar a compatibilidade entre os resíduos, de tal modo que resíduos incompatíveis devem ser segregados. Por fim, pode-se levar em conta o tratamento e o método de disposição final a ser utilizado.

IDENTIFICAÇÃO E ROTULAGEM DE PRODUTOS E RESÍDUOS QUÍMICOS

Para que as substâncias químicas possam ser manipuladas com segurança à saúde e ao meio ambiente, seja em operações internas, seja em procedimentos de transporte, de tratamento ou de disposição final, são necessárias informações relacionadas à composição e à periculosidade, que podem constar em um rótulo simples elaborado no próprio ambiente de trabalho.

O símbolo de risco adotado pelo Hazardous Material Information System (HMIS) da National Fire Protection Association (NFPA) dos Estados Unidos, cujo exemplo citado é conhecido também como Diagrama de Hommel ou Diamante do Perigo, é considerado muito simples, informativo e de rápido entendimento

(Figura 4). Esse símbolo traz informação qualitativa sobre periculosidade, e vem sendo adotado tanto na rotulagem de produtos químicos quanto na de resíduos químicos gerados em laboratório.

Entretanto, o uso desse tipo de rotulagem deve ser abandonado, já que a elaboração de um rótulo de produto químico perigoso exige a adoção do sistema de classificação de perigo conhecido como GHS, que é o acrônimo para The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (Sistema Harmonizado Globalmente para a Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos). O sistema GHS é construído em 26 classes de perigo e é composto dos seguintes elementos de comunicação:

- Nove pictogramas em forma de losango, com bordas vermelhas e símbolos pretos (Figura 5).
- Duas frases de advertência – Perigo e Cuidado.
- 71 frases de perigo (codificadas de acordo com os riscos físicos e químicos para a saúde e o meio ambiente).
- 137 frases de precaução (codificadas para prevenção geral de reação, armazenamento, descarte etc.).

O GHS se trata de uma abordagem lógica e abrangente para a definição dos perigos dos produtos químicos, além da comunicação da informação de perigo em rótulos, entre outros.

Outra razão para que se abandone o uso do Diagrama de Hommel na rotulagem de resíduos é a publicação recente da Norma ABNT NBR 16725, Resíduo Químico – Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente – Fichas com dados de segurança de resíduos químicos (FDSR) e rotulagem. Essa norma, válida des-

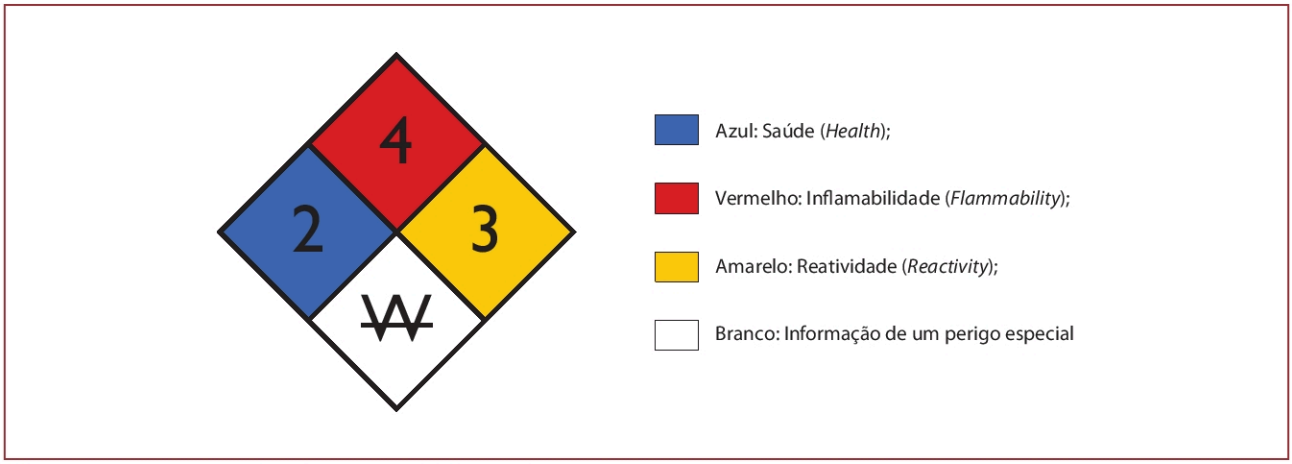


Figura 4. Etiqueta NFPA – Diagrama de Hommel.

Quadro 4. Significado da cor e dos números da etiqueta

	AZUL – Saúde	VERMELHO – Flamabilidade	AMARELO – Reatividade	BRANCO – Risco Especial
4	Mortal – morte por exposição breve.	Ponto de fulgor < 22,7°C e ponto de ebulição < 37,7°C – gases ou vapores que se inflamam facilmente.	Pode detonar – pode explodir em condições normais de pressão e temperatura.	• Agente oxidante – OXY • Ácido – ACID • Álcalis – ALK • Corrosivo – COR • Reação com água – W • Radioativo – símbolo de radiação
3	Extremamente perigoso – sérios ferimentos por exposição curta.	Ponto de fulgor < 37,7°C – líquidos ou sólidos que se inflamam sob condições de temperatura ambiente.	Explosiva – pode explodir quando aquecida ou em contato com água.	
2	Perigoso – ferimento ou incapacitação temporária por exposição intensa ou continuada.	Ponto de fulgor < 93,3°C – precisa de aquecimento para se inflamar.	Instável – reage violentamente à alta temperatura, pressão ou com água.	
1	Pequeno risco – irritação ou pequenos ferimentos por exposição.	Ponto de fulgor > 93,3°C – precisa de muito aquecimento para se inflamar.	Normalmente estável – instável a alta temperatura e/ou pressão.	
0	Ausência de perigo – não oferece riscos à saúde, mesmo combustível.	Não é inflamável.	Estável – não provoca reações violentas.	

de fevereiro de 2011, traz instruções e recomendações para os rótulos dos resíduos químicos classificados como perigosos, que devem:

- Ser confeccionados em material que resista às condições normais de manuseio, transporte e armazenagem até sua disposição.
- Conter o nome do resíduo químico perigoso.
- Conter o nome e número de telefone de emergência do gerador.
- Conter a composição básica qualitativa do resíduo (ingredientes conhecidos que contribuem para o perigo ou informações detalhadas sobre o processo gerador).
- Conter uma descrição dos perigos estabelecidos na classificação conforme a ABNT NBR 10004 e nas Regulamentações de Transporte de Produtos Perigosos.
- Conter frases de precaução, além de outras informações.

Além do rótulo, deve-se providenciar uma ficha com dados de segurança sobre os resíduos. Essa ficha está dividida em 13 seções, que envolvem:

1. Identificação do resíduo químico e da empresa.
2. Composição básica e identificação de perigos.
3. Medidas de primeiros socorros.
4. Medidas de controle para derramamento ou vazamento e de combate a incêndio.
5. Manuseio e armazenamento.
6. Controle de exposição e proteção individual.
7. Propriedades físicas e químicas.
8. Informações toxicológicas.
9. Informações ecológicas.
10. Consideração sobre tratamento e disposição.
11. Informações sobre transporte
12. Regulamentações
13. Outras informações

Uma vez que a NBR 16725 é de uso opcional até agosto de 2012, os geradores de resíduos químicos na área da saúde podem ainda adotar o rótulo que consta na norma Cetesb P4_262, de dezembro de 2003 (Figura 6), que dispõe sobre o gerenciamento de resíduos químicos provenientes de estabelecimentos de serviços de saúde.

É importante lembrar que os rótulos devem ser inseridos de forma indelével no frasco coletor, em local de fácil visualização, antes de colocar o resíduo, permitindo o pronto reconhecimento da composição e dos riscos envolvidos na manipulação dos resíduos. Assim, espera-se que um rótulo contenha:

- A identificação "resíduo perigoso".
- Frases e símbolos de risco (prevalecendo o maior risco em caso de misturas).
- Todas as informações importantes sobre a composição do resíduo (nomes das substâncias químicas e não fórmulas, abreviações ou códigos).
- O nome do responsável e do laboratório gerador.
- Dados sobre o volume armazenado.
- Datas relativas ao armazenamento.



Figura 5. Pictogramas adotados pelo GHS (http://cms.uni-kassel.de/unicms/?id=15438).

RESÍDUO QUÍMICO PERIGOSO	Nº controle da embalagem
Descrição (composição)	
Nome do estabelecimento	
Setor (origem do resíduo)	
Tipo	Periculosidade
Líquido orgânico Líquido inorgânico Resíduo seco Lodo	Corrosivo Inflamável Reativo Tóxico
Data do início de amazenamento ___/___/___	Quantidade final _____

Figura 6. Modelo de rótulo conforme a norma Cetesb P4.262 de dezembro de 2003.

RECIPIENTES DE COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

Para coleta e armazenamento de resíduos químicos, é necessário dispor de recipientes confeccionados em material estável e compatível com as características físico-químicas do resíduo e com o método de tratamento ou disposição a ser empregado. Dentro de um laboratório, a capacidade do recipiente deve ser adequada não só à geração diária do resíduo como também ao seu transporte, nunca excedendo 20 L. Além disso, os recipientes coletores devem estar perfeitamente vedados, apresentando rótulos com caracterização detalhada de seu conteúdo, conforme apresentado anteriormente. Os recipientes devem, também, ser armazenados sobre bandejas de contenção ou paletes para evitar o espalhamento de seu conteúdo em caso de acidente.

Há recipientes feitos de diversos materiais, como os de vidro transparente, resistentes ao tempo, ao calor, aos ácidos (exceto HF), às bases e aos solventes. São baratos, não se deformam e resistem bem a pressões internas. Entretanto, não protegem o conteúdo da luz. Já os de vidro colorido protegem o conteúdo da luz, mas são caros, pesados e frágeis. Recipientes de metal não resistem aos ácidos, e o alumínio não resiste ao mercúrio metálico. Porém, têm como vantagem o fato de serem impermeáveis e resistirem a altas temperaturas, sendo adequados para o armazenamento de combustíveis. Recipientes de plástico podem ser permeáveis e são pouco resistentes à temperatura, à luz, a choques e a uma série de produtos químicos. Deve-se ressaltar que existem diversos tipos de plástico e que, portanto, deve-se conhecer a compatibilidade do resíduo com o polímero que constitui o plástico. Por exemplo, o Polietileno de Alta e Baixa Densidade (PEAD, PEBD) resiste à maioria dos solventes e a soluções pouco ácidas ou pouco básicas, mas pode ser atacado se mantido a temperaturas mais elevadas. Já o polipropileno (PP) tem maior resistência ao calor, e o poliestireno (PS) é atacado por solventes orgânicos, pelo calor e se degrada com o passar do tempo, ainda que resista bem a soluções pouco ácidas ou pouco básicas. Informações sobre compatibilidade de materiais e produtos químicos podem ser encontradas em http://www.coleparmer.com/techinfo/chemcomp.asp. A Tabela 6 traz as principais substâncias utilizadas em serviço de saúde que são incompatíveis com PEAD.

Independentemente do material, alguns cuidados devem ser tomados quando do reaproveitamento de embalagens. Em primeiro lugar, deve-se ressaltar que tal prática é vedada pelo Ministério do Trabalho para trabalhadores da área da saúde, conforme o item 32.3.3 da NR32, Portaria MTE n. 485, de 11 de novembro de 2005. Outros trabalhadores podem adotar a prática de reaproveitamento de embalagens desde que esta seja descaracterizada, isto é, desde que seu rótulo seja completamente removido. Além da remoção do rótulo, deve-se lavar a embalagem, já totalmente exaurida do produto que ela continha, com o solvente mais adequado para a solubilização do produto. Esses solventes devem ser a água ou o etanol. O volume de solvente deve ser de cerca de um quinto do volume total do recipiente. A lavagem deve ser feita três vezes, e os líquidos resultantes da lavagem são resíduos químicos que devem ser tratados como tal. Embalagens de alimentos, bebidas, medicamentos, produtos de limpeza, entre outras não podem ser reutilizadas, já que não é possível descaracterizá-las.

Existe uma classificação[11] que pode ser adotada para a segregação e contenção de resíduos. Tal classificação se divide em nove tipos de recipientes rotulados com caracterização detalhada conforme suas características, subdivididas de A a I, de acordo com o Quadro 6.

Por fim, deve-se acrescentar que a legislação brasileira que trata do transporte de produtos perigosos (Resolução n. 420 da ANTT, Agência Nacional de

Quadro 5. Listas das principais substâncias utilizadas em serviço de saúde que reagem com embalagens de PEAD.

Ácido butírico	Cloreto de tionila	*o*-diclorobenzeno
Ácido nítrico	Bromobenzeno	Óleo de canela
Ácidos concentrados	Cloreto de amila	Óleo de cedro
Bromo	Cloreto de vinilideno	*p*-diclorobenzeno
Bromofórmio	Cresol	percloroetileno
Álcool benzílico	Dietilbenzeno	Solventes bromados e fluorados
Anilina	Dissulfeto de carbono	Solventes clorados
Butadieno	Éter	Tolueno
Ciclo-hexano	Fenol/clorofórmio	Tricloroeteno
Cloreto de etila, forma líquida	Nitrobenzeno	Xileno

Quadro 6. Classificação Merck para recipientes coletores de resíduos químicos.

Classificação	Resíduo
A	Solventes orgânicos livres de halogênios e substâncias orgânicas em solução.
B	Solventes orgânicos que contêm halogênio e substâncias orgânicas em solução. (Atenção: Não usar recipientes de alumínio.)
C	Resíduos sólidos de produtos químicos orgânicos do laboratório.
D	Sais em solução (os conteúdos de tais recipientes devem ser ajustados para pH 6 a 8).
E	Resíduos inorgânicos tóxicos e sais de metais pesados e soluções.
F	Compostos inflamáveis tóxicos.
G	Mercúrio e resíduos de sais de mercúrio inorgânicos.
H	Resíduos de sal metálico (cada metal deve ser coletado separadamente).
I	Sólidos inorgânicos.

Transporte Terrestre) prevê o uso de embalagens homologadas pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) para o transporte de produtos perigosos, incluindo resíduos. Essas embalagens devem ser de boa qualidade e resistentes a choques e a operações de carregamentos durante o transporte e o transbordo ou qualquer outra operação. Devem evitar vazamentos por quaisquer razões. Passam por ensaios de compressão (empilhamento), estanqueidade, pressão interna e queda, entre outros. Possuem códigos alfanuméricos e marca de conformidade (Portaria n. 73/06 INMETRO), devendo estar devidamente rotuladas. Embalagens vazias de produtos perigosos e não limpas devem ser transportadas fechadas e não devem apresentar qualquer sinal de resíduo perigoso aderente à parte externa da embalagem.

Como resíduos químicos perigosos podem causar impacto nocivo ao meio, é importante lembrar que a atividade de transporte para unidades de recuperação, de tratamento ou de disposição deve ser feita de maneira adequada, segundo a legislação, que exige habilitação especializada do motorista, característica, capacidade, identificação, licenciamento de veículos, confecção de fichas de emergência e de manifesto de cargas, equipamentos de proteção individual, coletiva e *kits* de emergência, uso de embalagens homologadas, entre outras. A compatibilidade entre os resíduos deve ser respeitada durante o transporte. Recomenda-se que seja contratada uma transportadora com certificações, contratos de atendimento de emergência e seguro ambiental para mitigar possíveis danos causados por acidentes envolvendo o resíduo.

MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS

Uma situação bastante comum em laboratórios químicos é a presença de frascos sem rótulos ou com rótulos danificados que impossibilitam a identificação dos conteúdos.

A caracterização desse material nem sempre é uma tarefa fácil, porém algumas análises simples podem ser efetuadas na tentativa de identificá-los e encaminhá-los para reutilização ou descarte. Cabe ressaltar que a abertura do frasco pode causar acidentes, como explosões pela presença de peróxidos ou de substâncias reativas com o ar. Assim, recomenda-se que a abertura seja feita apenas se absolutamente necessário, com o máximo cuidado, por pessoa especializada, considerando-se o resíduo sempre como tóxico e perigoso.

As técnicas apresentadas a seguir podem ser usadas para uma caracterização preliminar de produtos e resíduos químicos não identificados[12].

Para cada um dos testes a seguir, deve ser utilizada uma alíquota com a menor quantidade possível da substância a ser identificada.

1. Testar a reatividade com o ar, pegando uma pequena amostra, colocando-a em um vidro de relógio e observando se a amostra pega fogo ou se libera fumaça.
2. Testar a inflamabilidade colocando um palito de cerâmica no composto, deixando escorrer o excesso e levando-o à chama.
3. Testar a reatividade com água adicionando uma gota de água e observando se há formação de chama, liberação de gás ou reação violenta.
4. Medir o pH com papel indicador ou pHmetro.
5. Verificar a presença de cianetos adicionando uma gota de cloroamina-T e uma gota de ácido barbitúrico ou piridina em três gotas do composto. A cor vermelha indica teste positivo.
6. Observar a presença de sulfetos acidulando a amostra com HCl e testando em papel embebido em acetato de chumbo. O enegrecimento do papel indica teste positivo.

7. Verificar a presença de halogênios colocando no composto um fio de cobre limpo e previamente aquecido ao rubro e retornando-o à chama. Uma chama de coloração verde indica teste positivo.
8. Testar o caráter oxidante acrescentando uma pequena porção de um sal de Mn (II). Uma coloração escura indica teste positivo.
9. Testar o caráter redutor utilizando papel umedecido com 2,6-dicloroindofenol ou azul de metileno. Uma descoloração do papel indica teste positivo.

PROCEDIMENTOS GERAIS PARA TRATAMENTO DE RESÍDUOS

A geração de resíduos perigosos precisa ser evitada, porém, quando isso não é possível, devem-se buscar meios de minimizar os efeitos nocivos por meio de reutilização, reciclagem ou inativação[13]. Os processos utilizados[14] são:

Métodos físicos:

- Sedimentação, decantação, filtração e centrifugação: separação de componentes de uma mistura que estão em diferentes fases.
- Precipitação física: separação de um sólido que se forma a partir de um soluto em solução por uma mudança física na solução, como resfriamento, evaporação ou alteração da composição do solvente.
- Extrações e adsorções: as adsorções por carvão ativado ou por resinas de troca iônica são bastante utilizadas no tratamento de resíduos, especialmente naqueles constituídos de soluções aquosas de metais pesados, já que os adsorventes retêm íons dissolvidos.
- Destilação: procedimento empregado normalmente para recuperação de solventes orgânicos advindos de processos como extração, rotoevaporação, lavagem, cromatografia líquida de alta eficiência etc.

Métodos químicos:

- Neutralização: procedimento adotado no tratamento de resíduos ácidos ou básicos, usualmente pela adição de solução aquosa de hidróxidos, carbonatos e bicarbonatos de sódio ou potássio e de solução aquosa de ácido clorídrico ou sulfúrico, respectivamente.
- Precipitação química: separação de um sólido que se forma a partir de uma reação. Processo utilizado no tratamento de resíduos constituídos de soluções aquosas de metais pesados, como cádmio, chumbo, cromo, mercúrio, tálio, entre outros. Essas soluções podem ser tratadas com sulfeto ou hidróxido. O precipitado deve ser filtrado e enviado para aterro industrial, caso não possa ser reaproveitado.
- Redução: método utilizado no tratamento de resíduos oxidantes, como hipocloritos, peróxidos e soluções de metais pesados como cromo VI ou selênio. Os agentes redutores mais utilizados são sulfito, bissulfito ou metabissulfito de sódio ou potássio.
- Oxidação: utilizado no tratamento de resíduos redutores, como sulfitos, cianetos, cetonas, aldeídos, azidas, mercaptanas, hidrazinas e fenóis, que podem ser oxidados a combinações menos tóxicas e menos odoríferas. Os chamados Processos Oxidativos Avançados podem ser aplicados no tratamento de resíduos de compostos orgânicos complexos, que são convertidos a moléculas simples pela ação de radicais hidroxila, gerados principalmente na presença de peróxido de hidrogênio ou ozônio e de luz UV. Pode ser utilizado na recuperação de sílica. Os oxidantes mais utilizados são hipoclorito, peróxido de hidrogênio ou permanganato de potássio (KM_nO_4).
- Eletrólise: método aplicado principalmente na recuperação de metais dissolvidos em solução aquosa pela sua deposição.
- Degradação: processo no qual uma substância é transformada em outra, de menor periculosidade. Por exemplo, soluções aquosas de acetonitrila podem ser tratadas com excesso de NaOH a refluxo por 6 horas, gerando acetato de sódio e amônia.

Métodos biológicos:

- Depósitos no oceano.
- Depósito perpétuo.
- Biodegradação: processo de tratamento de resíduos pelo uso de microrganismos. Por exemplo, acetato de etila pode ser degradado por fungos ou enzimas, gerando ácido acético e etanol.
- Biossorção: Sorção na qual um material biológico (plantas ou microrganismos) é utilizado como sorvente, por exemplo, para reter íons de metais pesados de soluções aquosas.
- Aterros sanitários.

Tratamentos térmicos:

- Incineração: tratamento via decomposição térmica a uma temperatura superior a 850°C, aplicável à maioria dos resíduos orgânicos sólidos ou líquidos.
- Coprocessamento: tratamento via decomposição térmica de resíduos orgânicos sólidos e líquidos, que são utilizados como combustíveis alternativos na indústria cimenteira. Resíduos inorgânicos de ferro, cálcio, silício, alumínio e outros também podem ser tratados já que são incorporados à matriz de cimento.
- Plasma térmico: tratamento via decomposição térmica em uma tocha de plasma.
- Oxidação em sais fundidos: decomposição completa de resíduos em um reator que contenha sais fundidos, resultando em materiais inertes, água e gás carbônico.

- Água superaquecida.

Deve-se mencionar que, quando se opta por efetuar o tratamento de resíduos em um laboratório, é necessário:

- Buscar o procedimento específico para o tratamento do resíduo.
- Tratar pequenas quantidades após a realização de um teste em microescala.
- Dispor de infraestrutura e equipamentos de proteção individual e coletiva.
- Escolher um método simples e seguro, que promova a completa inativação do resíduo e que empregue equipamentos e reagentes de baixo custo.
- Conhecer detalhadamente as reações envolvidas, bem como os riscos envolvidos no processo.
- Assegurar que o método escolhido seja eficiente.

DISPOSIÇÃO FINAL EM ATERRO QUÍMICO CLASSE I E II

As empresas que possuem aterro para destinação de resíduos industriais Classe I e II seguem rigidamente as leis e normas impostas pelos órgãos ambientais. Não aceitam qualquer tipo de material, em especial líquidos e gasosos, e basicamente estão preparadas para receber resíduos sólidos de metais pesados.

A classificação em resíduo Classe I ou II é feita por meio de análise de caracterização e classificação determinada pela própria empresa em laboratório credenciado. O tipo e a concentração do agente químico perigoso determina o enquadramento em Classe I ou II, sendo a Classe II menos onerosa para disposição.

As condições para aceitação do resíduo dividem-se em três etapas:

1ª etapa: Preparação: deve atender ao anexo da NBR 12235 (incompatibilidade de resíduos) da ABNT, e o acondicionamento deve ser feito conforme orientação da empresa em relação ao tipo de recipiente e à homogeneidade do material.

2ª etapa: Relatório de viabilidade técnica – os resíduos serão caracterizados e classificados de acordo com as normas técnicas da ABNT:

- NBR 10004 – classificação.
- NBR 10005 – procedimentos para lixiviação.
- NBR 10006 – procedimentos para solubilização.
- NBR 10007 – procedimentos para amostragem.
- Complementares: Cetesb, Environmental Protection Agency (EPA) dos Estados Unidos e outras.

Com base nos resultados, é feito um estudo de viabilidade técnica para recebimento dos resíduos. Aprovado o relatório, é emitida a Carta de Anuência, que declara a compatibilidade com o aterro e a aceitação para disposição final nas valas. Esse relatório também possibilita a obtenção do Certificado de Movimentação de Resíduos de Interesse Ambiental (CADRI, antigo Certificado de Aprovação para Destinação de Resíduos Industriais), mediante formulários específicos emitidos pelo órgão ambiental (Cetesb, no caso de São Paulo).

3ª etapa: Remoção e disposição final: o serviço de remoção é realizado por frota da própria empresa, por transportadora por ela credenciada ou por transportadora contratada. O material deve ser acompanhado de Ficha de Emergência e Manifesto de Carga.

Ao chegar, todo resíduo é analisado pelo laboratório local por meio do "*Spot Test*", que detecta principalmente líquidos livres pelo método "*Paint Filter Test*".

As valas (Figura 7) para a disposição final dos resíduos são impermeabilizadas com dupla camada de polietileno de alta densidade (PEAD) com espessuras de pelo menos 1,5 a 2 mm. O solo também é preparado para evitar infiltrações. A operação das valas se dá sob cobertura metálica para evitar penetração da água das chuvas. Cheias, as valas recebem na superfície a membrana de PEAD, que é soldada nas bordas, transformando-se em um envelope gigante impermeável, cuja capacidade unitária é em torno de 20 mil toneladas. Por fim, a célula é coberta com terra.

Observação: Os passivos existentes em muitas instituições de ensino e pesquisa que realizam intensas atividades laboratoriais podem ter sua disposição final em aterro Classe I ou II inviabilizada por conta das misturas existentes de materiais não identificados, o que pode levar à reprovação do relatório.

NORMAS PARA ELIMINAÇÃO POR INCINERAÇÃO

As empresas que operam incineradores industriais exigem um laudo de análise dos resíduos a serem eliminados. De posse dele, comparam-no com a análise própria de amostras colhidas por técnico treinado conforme roteiro preestabelecido. Aprovada a caracterização, as guias são fornecidas para a documentação necessária e orientação para obtenção de licenças, perante o órgão ambiental competente. São necessários ainda os seguintes documentos para a remoção dos materiais até a incineradora: manifesto de transporte, declaração de envio de resíduos, um responsável pela carga, motorista credenciado para cargas perigosas, rotulagem específica, veículo identificado com sinalização adequada para produtos perigosos e embalagens homologada pelo INMETRO para o transporte de produtos perigosos, rotuladas para tal.

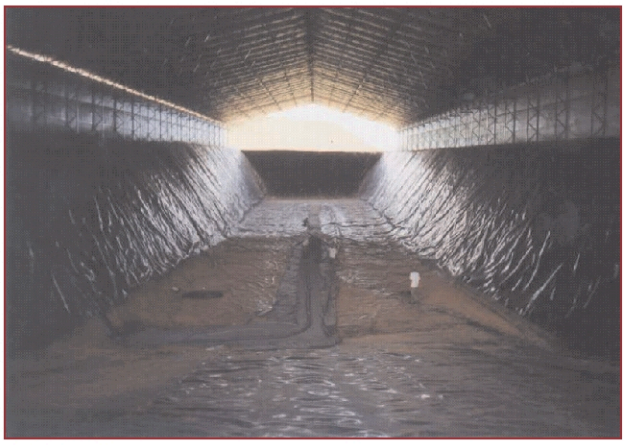


Figura 7. Vala para disposição final de resíduos químicos perigosos (Cortesia Ecossistema – Gerenciamento de Resíduos S.A.).

A incineradora impõe restrições a alguns metais pesados, flúor e certos sólidos como vidro e sucatas, porque esses materiais danificam componentes do equipamento ou encurtam o tempo entre as manutenções periódicas de rotina. É importante ressaltar a relevância do trabalho com parceria responsável, ao se relatar o risco imposto aos operadores do incinerador se lhes forem enviados materiais perigosos estranhos aos constantes no acordo entre as partes, uma vez que são processadas centenas de toneladas/mês e, na extenuante rotina desse tipo de trabalho insalubre, pode passar despercebida a presença de um produto tóxico, infectante, explosivo etc., incauta e ilegalmente enviado sem identificação de risco e segurança. Atualmente, isso ainda pode ser agravado pelo fato de o material ter de ficar vários dias aguardando o processamento, em razão da grande procura pelo processo de incineração.

Materiais com alto poder calorífico (PCIs) como os solventes inflamáveis são incinerados a custos menores porque economizam combustíveis e podem ser misturados com materiais de menor poder calorífico ("*blending*"). Inversamente, os organoclorados requerem maior gasto de energia para suas combustões e maior custo no tratamento dos gases efluentes que normalmente são emitidos para a atmosfera com 99,99% de grau de pureza. As escórias e cinzas que sobram da incineração (pode chegar a 30% da massa processada) são enviadas para aterros químicos Classe I e II. Por isso, o preço da incineração é determinado pelo tipo de resíduo.

Incineração via plasma

O sistema de eliminação de resíduos via plasma que normalmente opera quantidades menores diariamente, porém a temperaturas altíssimas (> 5.000°C), torna-se uma opção bastante adequada para efetuar o tratamento completo, definitivo e livre de riscos ao meio ambiente e à saúde pública, solucionando a questão do lixo hospitalar e dos resíduos perigosos gerados em instituições de ensino e pesquisa. Esse reator, denominado via plasma, funciona com um gás ionizado a temperaturas muito altas, gerando resíduos inertes e gases efluentes não perigosos, dispensando, portanto, tratamentos posteriores e aterros especiais para deposição de cinzas e escórias.

Tratamento de solventes

1. Éteres

O éter comum ou éter sulfúrico (C_4H_6O) pode ser recolhido em recipiente coletor junto com outros solventes orgânicos (isento de água) para futuro tratamento térmico, desde que não possa ser recuperado. Requer cuidados especiais, pois o seu ponto de ebulição é de 34,6°C, vaporizando com facilidade. Sendo seus vapores mais densos que o ar, eles acumulam-se sobre a bancada ou pia, podendo ocasionar explosões facilmente desencadeadas por chamas, faíscas ou descargas eletrostáticas. Esses vapores podem fixar oxigênio atmosférico, resultando em uma mistura altamente explosiva, ou seja, o peróxido-diidroxietila ($C_4H_6O_4$), segundo a equação:

$$C_4H_6O + 3/2\ O_2 \rightarrow C_4\ H_6O_4$$

2. Ésteres

Quando não puderem ser recuperados, os ésteres podem ser armazenados junto com os outros solventes orgânicos não clorados para serem enviados para tratamento térmico.

3. Álcoois

Vários álcoois, principalmente metanol (CH_3OH), etanol (C_2H_5OH), butanol (C_4H_9OH) e isopropanol (C_3H_9OH), quando descartados diretamente na pia, levam a risco de explosão do vapor na rede de esgotos. O metanol, sobretudo em determinadas quantidades no ambiente aquático, pode ocasionar a mortalidade de diferentes espécies, assim como contaminar águas subterrâneas. É um composto altamente tóxico que pode causar cegueira no ser humano e até mesmo a morte, pois se apresenta como líquido incolor e com odor semelhante ao do álcool etílico, o que pode causar confusão, provocando graves acidentes. O álcool isopropílico é mais tóxico do que o etanol, e seus efeitos clínicos duram de duas a quatro vezes mais[15]. A absorção dérmica é insignificante, mas a inalação pode provocar intoxicação grave e até coma. O tratamento recomendado para descarte dos álcoois é o térmico, quando não puderem ser recuperados.

4. Hidrocarbonetos aromáticos

Os hidrocarbonetos aromáticos são compostos tóxicos de intensidade variável[16]. Benzeno é um líquido volátil (ponto de ebulição de 80°C), tóxico e cancerígeno. O tolueno e os xilenos, considerados menos cancerígenos, são também bastante tóxicos. Cuidado especial deve ser tomado para evitar a inalação dos vapores de benzeno e seus derivados.

Segundo a NR 15, não deve ser permitida nenhuma exposição ou contato com o benzeno. A referida norma adverte para a periculosidade do tolueno e do xileno, pois podem ser absorvidos pela pele e por via respiratória. O método de descarte recomendado é a estocagem em recipientes coletores apropriados por um curto período de tempo e posterior tratamento térmico à temperatura próxima de 1.000°C com perfeita identificação para proteção dos operadores. Um grande problema é a mistura de aromáticos com outros solventes em pequenas proporções, impossibilitando a sua identificação.

5. Hidrocarbonetos alifáticos

Os hidrocarbonetos alifáticos podem ser tóxicos por inalação e podem causar narcose. Entre os de uso comum em laboratório (pentano, ciclo-hexano, hexano, ciclo-hexano e n-heptano), o n-heptano é o que apresenta menor risco à saúde, e seu uso tem sido recomendado em substiutição ao n-hexano. O método recomendado para tratamento de hidrocarbonetos é o térmico, quando não for inviável sua recuperação.

6. Acetonitrila

Vapores de acetonitrila são irritantes para os olhos, o nariz e a garganta. Da mesma maneira, o líquido é irritante para olhos e para a pele. Resíduos de acetonitrila, quando não puderem ser recuperados, devem ser encaminhados para tratamento térmico.

7. Cetonas

Várias cetonas são usadas corriqueiramente em laboratório, sobretudo a acetona, a metil-isobutilcetona e a metil-etilcetona, a ciclo-pentanona e a ciclo-hexanona. São irritantes para olhos, o nariz e a garganta, podendo causar perda da consciência se inaladas. Resíduos de cetonas, quando não puderem ser recuperados, devem ser encaminhados para tratamento térmico.

8. Solventes clorados

Solventes clorados são irritantes e tóxicos. Podem causar náusea e tonturas. Seus resíduos, quando não puderem ser recuperados, devem ser queimados na presença de igual volume de carbonato de sódios e hidróxido de cálcio em incineradores equipados com pós-queimador e lavador de gases. No caso do tetracloreto de carbono, deve-se misturá-lo com vermiculita e depois com as bases secas. O clorofórmio deve ser misturado a outro combustível antes da incineração. Deve-se garantir a combustão completa para evitar a formação de fosgênio.

Recuperação de solventes em escala industrial

A recuperação de solventes em escala industrial é um procedimento que cresce anualmente em função da viabilidade econômica e do maior rigor na legislação ambiental. Em uma análise crítica, quando possível, qualquer outra destinação é mais racional do que eliminar um material com gasto de energia e geração de outros resíduos. Entretanto, o processo de recuperação só é possível em condições especiais e dependentes de alguns fatores:

- Quantidade disponível acima de mil litros.
- Número e tipo de contaminantes; normalmente a recuperação só se dá dentro da mesma família de solventes e no máximo com dois contaminantes.
- Diferenças das temperaturas de ebulição dos componentes acima de 20°C.
- Componentes que não formem misturas azeotrópicas.
- Ausência de componentes com alto grau de periculosidade.

Há exceções aos casos citados, ou seja, empresas estão se equipando com aparelhos mais eficientes que conseguem superar algumas das dificuldades citadas. Porém, ainda assim, pode ocorrer a inviabilização econômica da recuperação em virtude do uso do processo mais sofisticado e, portanto, mais caro.

Em geral, essas empresas recuperadoras trabalham na forma de prestação de serviços e cobram, recebem os solventes por doação, compram os solventes ou ainda ficam com parte do material como pagamento do beneficiamento.

A recuperação de solventes poderá progredir muito ainda em função da colaboração dos geradores das misturas, para trabalhar sob a ótica da recuperação, misturando ou contaminando o mínimo possível e utilizando produtos mais adequados em relação às propriedades físico-químicas e com maior interesse para reciclagem. Um exemplo bastante ilustrativo é o da substituição do clorofórmio normalmente usado nos cromatógrafos líquidos de alta eficiência por cloreto de etileno. Este último possui baixa toxicidade e tem muita aplicação e procura como agente de expansão na fabricação de espuma de poliuretano.

Recuperação de solventes em laboratório

A recuperação de solventes em escala de laboratório é viável, desde que os resíduos sejam segregados e armazenados de maneira adequada. Assim, podem-se recuperar facilmente os resíduos recolhidos quase puros. Já a recuperação daqueles gerados como mistura está condicionada às diferenças de pontos de ebulição dos componentes, às aparelhagens disponíveis, à formação de misturas azeotrópicas e à miscibilidade dos componentes da mistura com outro solvente ou com a variação de temperatura, ou ainda, com a possibilidade da destruição de um deles por um agente químico ou biológico.

Tratamento de gases e vapores

A implantação de um depurador/lavador de gases, em uma unidade de ensino e pesquisa, tem como fator limitante principal o custo do equipamento, e, somente em casos especiais, pode tornar-se viável, como, por exemplo, se a disposição dos laboratórios permitir a instalação do aparelho servindo ao conjunto todo, ou ainda se a relação custo/benefício for favorável por algum motivo intrínseco àquela instituição. Outro problema que ocorre nas atividades de ensino e pesquisa é a maior variedade de gases e vapores que podem ser desprendidos das reações, em geral em pequenas quantidades, praticamente impossível de ser prevista pelo projeto de construção do depurador. Muitas famílias químicas possuem componentes (certos hidrocarbonetos, tetracloreto de carbono, clorofórmio, hidrogênio etc.) não susceptíveis a lavagens convencionais. Esse fato, somado às pequenas quantidades geradas, complica o funcionamento ou as possíveis adaptações ao equipamento comercial, mais adequado a finalidades industriais.

Feitas essas considerações, deve-se ressaltar que tais equipamentos, quando utilizados segundo as normas de fabricação, apresentam alto grau de separação, boa relação custo/benefício, eficiência de até 98% e possibilidades de adaptações de sistemas de neutralização do resíduo captado. Essas unidades lavadoras/depuradoras possuem sistema de funcionamento muito simples que consiste na absorção dos gases e na retenção de material particulado por uma solução aquosa.

Tratamento de gases e vapores no laboratório

O descarte de cilindros de gases, vazios ou cheios, sob baixa ou alta pressão pode representar um grave problema, de tal modo que seu custo pode ser superior ao da compra do gás. Assim, antes de adquirir um cilindro, recomenda-se verificar se é possível retorná-lo para o fabricante.

Se for necessária a utilização de um gás que é comercializado apenas em cilindros não retornáveis, antes de descartá-lo será preciso esvaziá-lo completamente, de maneira segura, o que requererá assistência do fornecedor do gás. O conteúdo do cilindro deverá ser tratado como qualquer resíduo perigoso dependendo da substância química envolvida. O cilindro vazio deve ser lavado completamente, sua válvula deve ser removida e então o cilindro deve ser lavado novamente. As águas de lavagem deverão ser tratadas como resíduo, e o cilindro poderá ser enviado para reciclagem (http://www.chemistry.emory.edu/department_info/safety/ChEmoryWasteDisposal_NEW.pdf).

Ao se deparar com um cilindro sem identificação, examine-o atentamente. Tente encontrar o nome ou contato do fabricante e identificar a cor e o tipo de válvula, o que facilitará a identificação do conteúdo. Um cilindro de gás não pode ser considerado vazio até que sua válvula tenha sido removida, mas não tente removê-la para esvaziar o cilindro, já que isso representaria risco elevado de fogo, explosão, envenenamento, entre outros, dependendo do conteúdo e da pressão do cilindro, já que os gases podem ser inertes, corrosivos, inflamáveis, oxidantes ou tóxicos (Tabela 2, http://www.drs.illinois.edu/css/factsheets/compgas.aspx). Além disso, é importante lembrar que a NR32 proíbe a transferência de gases de um cilindro para outro, independentemente da capacidade dos cilindros.

Disposição de metais pesados

As empresas que possuem aterro químico Classes I e II exigem laudo de análise do resíduo a ser descartado, por laboratório credenciado, e fornecem a lista desses laboratórios. Por isso, certas misturas de metais podem encarecer a análise a ponto de inviabilizar a disposição final do resíduo ou mesmo não serem aceitas (em casos de misturas complexas não identificadas, pode ainda não haver solução para a disposição final). Com esse laudo de análise é solicitado o CADRI ao órgão ambiental (Cetesb, em São Paulo), à semelhança do que ocorre com os solventes para incineração.

A empresa cobra por tipo de resíduo e possui limites de aceitabilidade, acompanhando a chegada do material com análises próprias. O gerador é responsável pelo resíduo até a chegada na empresa e disposição final. Só são aceitos materiais no estado sólido, com teor de umidade conhecido e estabelecido previamente. Resíduos líquidos podem ser solidificados via encapsulamento em vidro ou concreto.

Muitos metais podem ser tratados em laboratório por reações de precipitação, seja na forma de sulfeto, hidróxido ou carbonato. Os sólidos resultantes devem

Tabela 2. Características de gases especiais.

Gás	Limites inflamáveis no ar (Vol.%) (1)	Oxidante	Inerte	Corrosivo	Tóxico
Acetileno	2,5-100				
Ar		X			
Amônia				X	
Argon			X		
Arsina	5,1-78				(3)
Tricloreto de boro				X	X
Trifluoreto de boro		X		X	(3)
1,3-butadieno	2,0-11,5				
Gás butano	1,8-8,4				
Buteno	1,6-10				
Gás carbônico			X		
Monóxido de carbono	12,5-74				X
Cloro		X		(2)	(3)
Diborano	0,8-98				(3)
Diclorosilano	4,1-98,8			X	X
Dimetilamina	2,8-14,4			X	
Etano	3,0-12,4				
Etileno	2,7-36				
Óxido de etileno	3,6-100				X
Flúor		X			(3)
Halocarbono-13 (Clorotrifluorometano)			X		
Hélio			X		
Hidrogênio	4,0-75				
Brometo de hidrogênio				(2)	(3)
Cloreto de hidrogênio				(2)	(3)
Fluoreto de hidrogênio				X	(3)
Sulfeto de hidrogênio	4-44			(2)	(3)
Isobutano	1,8-9,6				
Isobutileno	1,8-9,6				
Criptônio			X		
Metano	5-15				
Cloreto de metila	10,7-17,4				
Monometilamina	4,9-20,7			X	
Neón			X		
Óxido Nítrico		X		(2)	(3)
Nitrogênio			X		
Dióxido de nitrogênio		X		(2)	(3)
Trifluoreto de nitrogênio		X			
Óxido Nitroso		X			
Oxigênio		X			
Ozônio		X			
Fosgênio					(3)
Fosfina	1,6-99				(3)
Propano	2,1-9,5				
Propileno	2-11				
Silano	1,5-98				
Dióxido de enxofre				(2)	(3)
Hexafluoreto de enxofre			X		
Tetrafluoreto de enxofre				X	(3)
Trimetilamina	2-12			X	
Cloreto de vinila	3,6-33				
Xenon			X		

1. Limites inflamáveis à pressão atmosférica e temperatura normais.
2. Corrosivos na presença de umidade.
3. Tóxico. Recomenda-se que o usuário esteja completamente familiarizado com a toxicidade e outras propriedades deste gás.

ser estocados para posterior envio a aterro. Outros metais, como a prata, podem ser recuperados no próprio laboratório e por empresas especializadas e licenciadas pelo órgão ambiental.

REFERÊNCIAS PARA TRATAMENTO DE RESÍDUOS QUÍMICOS

Uma grande dificuldade para o responsável pelo tratamento de resíduos perigosos é o de determinar qual método será eficiente para a inativação de seus resíduos. Existem algumas referências que trazem procedimentos para a destruição de produtos químicos. Entre elas, pode-se citar um guia de disposição de reagentes[17] que traz procedimentos específicos descritos detalhadamente. Procedimentos gerais, por classes de substâncias, também são encontrados[18-20].

A Cetesb, ligada à Secretaria do Meio Ambiente do governo paulista, apresenta, em seu site (http://www.cetesb.sp.gov.br/gerenciamento-de-riscos/emergencias-quimicas/258-manual-de-produtos-quimicos), um Manual de Produtos Químicos, constituído de fichas de informações de produtos químicos. Nessas fichas, pode-se encontrar um item denominado "Neutralização e Disposição Final", que traz métodos de inativação para diversas substâncias químicas.

Para solventes orgânicos, recomenda-se um manual[21], que apresenta inúmeras informações sobre a recuperação dos principais solventes utilizados em laboratório.

Consultando o catálogo da Aldrich (Handbook of Fine Chemicals and Laboratory Equipment), foi encontrada uma ficha técnica que contém as principais características do produto e sugestões para o seu gerenciamento. Nos catálogos mais antigos, também foram encontrados dados para a disposição final dos resíduos, sob a sigla "Disp". Entretanto, nos mais recentes, esse tipo de orientação foi suprimido e consta agora em um CD-ROM, cujas formas de aquisição estão descritas no próprio catálogo. A seguir, estão apresentados alguns desses principais procedimentos disponibilizados pela empresa.

Incineração

Todos os produtos assinalados com o código de descarte A, B, C, D, G, I, J, K, M, S, T, U e V podem ser enviados a um incinerador específico para esse fim, porém devem ser preparados de maneira diferente em função do código.

- A – Tais produtos podem ser misturados ou dissolvidos em um solvente combustível para a incineração.
- B – Este grupo de produtos halogenados pode ser queimado com uma mistura de igual volume de soda, como Na_2CO_3 ou $Ca(OH)_2$.
- C – Tais produtos são combustíveis e podem ser queimados puros.
- D – Estes produtos são voláteis e altamente inflamáveis, sendo necessário manuseá-los com cuidado no início da incineração.
- J, K, M e S – Produtos designados com estes códigos podem ser tóxicos, explosivos, sensíveis ao choque ou altamente reativos. Consulte o responsável pelo processo de incineração para conhecer o procedimento.
- G, I, T, U e V – Neste grupo de produtos estão os sensíveis ao calor ou à umidade. Eles tendem a ser pirofóricos e/ou liberar hidrogênio quando expostos, devendo ser manuseados sob argônio ou nitrogênio seco. Consulte o responsável pelo processo de incineração para conhecer o procedimento.

Reciclagem

P e R – Material em estado elementar ou catalisadores caros poderão ser enviados para recuperação ou reciclagem.

Tratamento

Todos os produtos assinalados com os códigos E, F, H, L, N, O, Q e W podem ser convertidos em uma forma adequada para o descarte em uma área destinada a esse fim. Procedimentos de manuseio e preparação variam por código.

- E – Estes sais inorgânicos de bário e estrôncio podem ser convertidos em seus sulfatos insolúveis pelo tratamento com solução diluída de ácido sulfúrico, usando procedimento-padrão. Os sais são isolados por filtração e enviados a uma área de descarte controlada. O filtrado é mandado para a planta de tratamento de água.
- F – Muitos destes produtos, os quais são fluoretos orgânicos ou inorgânicos, são convertidos em fluoreto de cálcio tratando uma solução com excesso de cloreto de cálcio. Os sais são isolados por filtração e enviados a uma área de descarte controlada. O filtrado é encaminhado para uma planta de tratamento de água.
- H e W – Consistem em soluções volumétricas, corantes, indicadores e padrões. Estes podem ser concentrados e misturados com o auxílio de filtro e enviados a uma área de descarte controlada.
- L – Estes sais de metais de transição podem ser convertidos no correspondente sulfeto insolúvel,

usando o procedimento-padrão descrito na literatura, antes de ser enviado à área de descarte.

- N, O e Q – Neste grupo de produtos estão incluídos os sais inorgânicos em geral, sais de metais de terras raras e alguns organometálicos. Esta categoria pode ser enviada diretamente ao depósito.

  Outros

- Y – Cilindros de gás vazio da Aldrich poderão ser enviados ao fabricante. Cilindros cheios ou parcialmente cheios deverão ser mandados para um depósito regulamentado.

A DESTINAÇÃO DE EMBALAGENS E RECIPIENTES

Embalagens contaminadas com materiais químicos perigosos devem ser tratadas como resíduos Classe I. Entretanto, esse procedimento, embora correto, eleva os custos do programa de gerenciamento de materiais perigosos da instituição, principalmente quando se trata de recipientes de vidro que contêm um mínimo de resíduos, mas a massa total é grande.

Alguns procedimentos alternativos são viáveis e menos onerosos. São eles:

- Frascos de vidro ou plástico que continham reagentes solúveis em água e de baixa toxicidade (álcoois, ácidos, ésteres, aldeídos, cetonas, éteres, sais inorgânicos, secantes etc.) podem ser reciclados por empresas especializadas.
- Frascos plásticos contaminados devem seguir para incineração.
- Embalagens flexíveis como papel e papelão, plásticos, tecidos, fibras etc. contaminadas com materiais químicos perigosos têm de ser enviadas para tratamento térmico ou aterro classe 1 acondicionadas em fardos protegidos com material impermeável ou em barricas plásticas especiais.

A mistura de embalagens dos tipos citados pode encarecer ou até inviabilizar o processo de destinação final ou reciclagem. Por isso, é necessário o monitoramento constante dos locais de deposição temporária desses materiais a fim de evitar que resíduos de classes diferentes sejam depositados no mesmo local.

Tem crescido o setor de reciclagem de objetos fabricados com materiais químicos perigosos, como pilhas, baterias, lâmpadas etc. Essa opção é muito favorável tanto para evitar que esses produtos sejam lançados no meio ambiente quanto para prevenir a deposição em locais destinados a resíduos de outra categoria, colocando em risco o trabalho de coleta e destinação final.

GERENCIAMENTO DO PASSIVO

Materiais considerados perigosos, não identificados, misturados, contaminados ou que se encontrem em condições tais que seu descarte esteja inviabilizado por qualquer motivo (p. ex., econômico) são classificados como passivos. Esse problema tão sério vem-se acumulando em muitos anos de atividades laboratoriais, comerciais e industriais e representam hoje uma fonte de alto risco ao meio ambiente e à saúde pública, que precisa ser eliminado rapidamente. O custo do procedimento de eliminação dos passivos existentes no Brasil e em vários outros países é, na maioria dos casos, tão alto que inviabiliza o processo mesmo para empresas financeiramente estáveis.

Segundo dados do III Workshop Preparatório (Belo Horizonte – MG, julho de 2000) para o III Fórum Intergovernamental de Segurança Química (Salvador – BA, outubro de 2000), calculou-se que existiam mais de cem mil toneladas de passivos químicos perigosos distribuídos pelo país. O conhecimento desse assombroso número, o esclarecimento sobre os riscos que esses materiais oferecem ao meio ambiente e à população e a maior cobrança por parte dos órgãos ambientais e de saúde pública vem exigindo uma solução segura para o problema, pelo menos em médio prazo.

Como medida de caráter emergencial, pode-se sugerir a segregação desse passivo químico perigoso em suas embalagens originais em barris plásticos de alta densidade, com volumes de até 200 litros, e o acondicionamento do material indesejável com um agente de apassivação como areia seca, cal, terra de diatomáceas ou outro absorvedor comercial adequado, com a finalidade de neutralizar possíveis vazamentos. Assim preparados, os barris (Figura 8) devem ser armazenados em local arejado e de acesso controlado. A seguir, o gerador deve contratar uma empresa de consultoria especializada para o manuseio, transporte e disposição adequadas do seu passivo.

PROTOCOLOS PRÁTICOS PARA INATIVAÇÃO DE PRODUTOS PERIGOSOS

Alguns protocolos práticos podem ser encontrados nos sites de algumas instituições de ensino, por exemplo:

http://www.fcf.usp.br
http://www2.ufscar.br/interface_frames/index.php?link=
http://www.ufscar.br/~ugr/cema/
http://www2.iq.usp.br/iqrecicla/index.html
http://www.fpm.wisc.edu/chemsafety



Figura 8 Passivo acondicionado em condições emergenciais.

A seguir estão listados vários procedimentos de fácil execução que podem ser utilizados rotineiramente em laboratórios didáticos e de pesquisa.

Como substituir a mistura sulfocrômica

A mistura sulfocrômica, perigosa, tóxica e poluente, pode ser substituída por uma solução preparada com ácido sulfúrico e água oxigenada, ou seja:

- 1/3 de água oxigenada a 30%
- 2/3 de ácido sulfúrico concentrado

Cuidados: Preparar no momento do uso, em pequenas quantidades, utilizando capela e EPIs. Adicionar a água oxigenada sobre o ácido, lentamente. Utilizar pipeta para a adição. Lembre-se: um frasco muito sujo necessita de limpeza por etapas. Não resolve encher com solução limpadora e deixar de molho. Um frasco carbonizado, por exemplo, requer raspagem mecânica prévia. Em casos extremos, é preferível inutilizar o recipiente ou usá-lo para outra função a tentar limpá-lo a custa de soluções perigosas ou caras.

Hipoclorito como desinfetante

Constituem soluções desinfetantes excelentes, baratas, pouco tóxicas e de fácil aquisição. Atacam metais (mesmo aço inox) e se decompõem sob ação de luz e calor. A melhor faixa de concentração é entre 0,5% e 2%. Quando reutilizadas, devem ser testadas quanto ao teor de cloro ativo. Para realizar um teste rápido, adicione em um tubo de ensaio l mL de iodeto de potássio a 0,1M, 1 mL de tiossulfato de sódio a 0,01M e três gotas de solução de amido solúvel a 1%. A seguir, coloque 0,4 mL da solução de hipoclorito a ser testada, que deverá ficar azul para comprovar a presença significativa de cloro. As soluções para teste são estáveis e baratas. As soluções de hipoclorito de sódio que apresentam resultado negativo nesse teste devem ser descartadas na rede de esgotos. O tiossulfato ou bissulfito podem ser usados para eliminação do cloro ativo.

Aproveitamento de hidróxido de sódio

Sobras de hidróxido de sódio podem ser utilizadas para produção de sabões com restos de óleos e gorduras não contaminados. Indica-se a proporção de 7:4:1 (água:gordura:soda). Essa proporção nem sempre é a mais adequada, porém, como o pH final deve situar-se entre 8 e 10, aumenta-se ou diminui-se a quantidade de hidróxido até atingir a alcalinidade desejada. A reação pode ser feita a frio sob constante agitação. Deve-se adicionar sempre o óleo na solução aquosa da soda. O uso de corante ou essência fica a critério.

Como tratar resíduos de ácidos em soluções aquosas

- Ácidos inorgânicos
  Devem ser diluídos, em capela, adicionando-se em água sob agitação. Em seguida, são neutralizados com solução de NaOH. Ácido sulfúrico fumegante deve ser tratado com ácido sulfúrico a 40% gota a gota e sob cuidadosa agitação. Deve ser mantido em gelo para resfriar o recipiente. Após o resfriamento, deve ser tratado como indicado.

- Ácidos orgânicos em solução aquosa
  Podem ser neutralizados com $NaHCO_3$ ou NaOH.

- Ácidos carboxílicos aromáticos
  Podem ser precipitados com HCl diluído e, a seguir, filtrados a vácuo. O sólido resultante pode ser reutilizado ou tratado termicamente.

Como tratar resíduos de bases

- Bases inorgânicas
  Podem ser diluídas com água e neutralizadas com solução de HCl ou H_2SO_4.

- Bases orgânicas e aminas na forma dissociada
  Podem ser neutralizadas com HCl ou H_2SO_4 diluídos para minimizar seus odores.

Como descartar metais pesados

As seguintes técnicas podem ser empregadas para desativar resíduos que contêm metais pesados[22]:

Nitrato de prata

Visa a orientar os pesquisadores que trabalham com eletroforese em gel de poliacrilamida e posterior coloração com nitrato de prata. A prata, em seu estado oxidado (Ag^{+}), não é encontrada livre na natureza, portanto, o despejo de seus sais no meio ambiente é uma forma de agressão contra ele. Assim, a prata deve ser primeiramente reduzida ao seu estado metálico (Ag^{0}) e então descartada. Um método rápido e fácil de realizar esse procedimento é adicionar um volume de solução de formaldeído a 0,28% e NaOH a 3% para cada volume de solução de nitrato de prata ($AgNO_3$) a 0,17%.

Outros sais de prata

Cloreto de prata é um dos resíduos mais comuns em laboratórios. Existem vários métodos para recuperar a prata:

a. Cobre em meio amoniacal:
- Colocar 7 g de cobre em pó para cada 25 g de resíduo de prata em um béquer de 250 mL com 50 mL de hidróxido de amônio concentrado.
- Adicionar 50 mL de água destilada quente.
- Agitar rapidamente até que toda a prata precipite.
- Testar a solução sobrenadante adicionando um pedaço de cobre. Se este escurecer, deve-se acrescentar mais cobre à solução azul e deixar decantar.
- A prata precisa ser lavada várias vezes com água destilada até que perca a coloração azul.

b. Formaldeído:
- Dissolver 0,82 g de NaOH em 25 mL de água destilada.
- Adicionar cloreto de prata e 0,6 mL de formaldeído (essa reação é exotérmica).
- Aquecer por dez minutos a 70°C sob agitação por 1 hora.
- Separar a prata metálica.
- Lavar com água abundante.
- Filtrar e secar.

c. Dextrose:
- Dissolver 0,54 g de NaOH em 25 mL de água destilada.
- Acrescentar o cloreto de prata.
- Em seguida, adicionar 0,74 g de dextrose.
- Deixar em aquecimento a 70 °C por 1 hora.
- Filtrar a prata.
- Lavar e secar.

d. Cloreto de sódio:
- Acidificar a solução que contém sal de prata com HNO_3 6M.
- Adicionar, sob agitação, uma solução aquosa de NaCl até a completa precipitação do Ag^{+}.
- Filtrar o AgCl formado.
- Lavar o precipitado com ácido sulfúrico 4M morno.
- Após a lavagem, misturar o precipitado com zinco metálico, o que resultará na formação de prata metálica.
- Filtrar a prata metálica.
- Para reutilizar a prata na forma de nitrato, dissolver a prata com HNO_3.

Sais de cobre

Recomenda-se a precipitação dos íons cuproso Cu^{+1} e cúprico Cu^{+2} na forma de hidróxidos[4] por causa da insolubilidade do hidróxido formado.

a. Íon cuproso (Cu^{+1}):
- Adicionar NaOH à solução.
- Ajustar o pH em 9.
- Guardar o sólido formado no frasco coletor para ser enviado para aterro.
- O líquido sobrenadante pode ser descartado na pia.

b. Íon cúprico (Cu^{2+})
- Adicionar NaOH.
- Ajustar o pH em 7.
- O sólido formado deve ser guardado no frasco coletor para ser enviado para aterro.
- O líquido sobrenadante pode ser descartado na pia.

Alternativamente, os íons de cobre podem ser precipitados como sulfeto, ajustando o pH da solução para 7 até a completa precipitação. Os insolúveis devem ser filtrados e enviados para aterro classe I. Qualquer excesso de sulfeto com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio deve ser destruído. A fase líquida isenta de cobre e sulfeto tem de ser drenada para o esgoto.

Cu^{2+} resultante do método Micro-Kjeldahl

Armazenar separado de outros resíduos. Neutralizar com NaOH a 10%. Acrescentar o equivalente grama de uma solução semelhante à de Fehling B, ou seja, 173 g de tartarato de sódio e potássio e 50 g de hidróxido de sódio para 1 L de água. Acrescentar, sob ebulição, azul de metileno e glicose até viragem (desaparecimento da cor azul). Assim tratado, o íon Cu^{2+} passa a óxido

de cobre e pode ser descartado em aterro Classe I, na forma sólida.

Sais de chumbo

Os íons de chumbo podem ser precipitados como sulfeto, ajustando o pH da solução para 7 até a completa precipitação. Filtrar os insolúveis e enviar para aterro classe I. Destruir qualquer excesso de sulfeto com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio. Drenar a fase líquida isenta de chumbo e sulfeto para o esgoto. Alternativamente, pode-se precipitar o chumbo na forma de silicato conforme a seguinte equação:

$$Pb^{+2} + Na_2SiO_3 \rightarrow \underset{\text{Silicato de chumbo (insolúvel)}}{PbSiO_3} + 2Na^+$$

Para tanto:

- Adicionar, sob agitação, uma solução de metassilicato de sódio a 0,1% à solução que contém o sal de chumbo.
- Ajustar o pH em 7 com ácido sulfúrico a 2 mol/L.
- Deixar a solução em repouso por uma noite.
- Filtrar o precipitado ou evaporar a solução na capela.
- Guardar o material sólido em frasco coletor.
- Caso seja adotado o processo de filtração, verificar se sobraram íons chumbo na solução.
- Se o teste for positivo, adicionar mais metassilicato, repetindo o procedimento até que não ocorra mais precipitação.
- A fase líquida pode ser eliminada na pia.

Sais de cádmio

Os íons de cádmio podem ser precipitados como sulfeto, ajustando o pH da solução para 7 até a completa precipitação. Filtrar os insolúveis e enviar para aterro classe I. Destruir qualquer excesso de sulfeto com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio. Drenar a fase líquida isenta de cádmio e sulfeto para o esgoto. Alternativamente, pode-se precipitar o cádmio na forma de silicato conforme a seguinte equação:

$$Cd^{+2} + Na_2SiO_3 \rightarrow \underset{\text{Silicato de cádmio (insolúvel)}}{CdSiO_3} + Na^+$$

Para tanto:

- Adicionar, sob agitação, uma solução de metassilicato de sódio a 0,1% à solução que contém sais de cádmio.
- Ajustar o pH em 7 com ácido sulfúrico a 2 mol/L.
- Aquecer a 80°C por 15 minutos para que a reação seja completa.
- Filtrar o precipitado.
- Adicionar mais metassilicato à solução sobrenadante, até que não ocorra mais precipitação.
- O líquido sobrante pode ser despejado na pia.
- O precipitado deve ser guardado em frasco coletor para futura incineração ou aterro.

Sais de mercúrio

Os métodos a seguir são indicados para inativação de mercúrio ou seus sais[23].

- Ajustar o pH da solução que contêm sais de mercúrio para 10 utilizando uma solução de NaOH a 10%.
- Adicionar uma solução de sulfeto de sódio a 20% sob agitação até que não se observe mais precipitação.
- Filtrar.
- Verificar se a precipitação foi completa adicionando mais sulfeto ao líquido sobrenadante.
- Se ainda houver mercúrio na solução, é necessário repetir o procedimento.
- Recolher o precipitado em embalagem especial.
- A fase aquosa deve ser tratada com hipoclorito ou peróxido de hidrogênio para retirada do excesso de sulfeto.

$$Hg^{+2} + Na_2S \rightarrow \underset{\text{Sulfeto de mercúrio (insolúvel)}}{HgS} + 2Na^+$$

a. Organomercuriais aromáticos reagem com hidrogênio gerando mercúrio metálico e o aromático correspondente. O resíduo deve ser dissolvido em solução alcalina, e o hidrogênio é gerado por adição de zinco ou alumínio em excesso. O mercúrio é separado como amálgama dos metais adicionados e o composto orgânico, recuperado por destilação.
b. A remoção do mercúrio de soluções de cianeto usadas na lavagem de minério de ouro por complexação pode ser feita com dimetilditiocarbamato de sódio que se transforma no resíduo de carbamato de mercúrio adequado para disposição em aterro industrial.
c. Soluções diluídas de cloreto de mercúrio podem ser submetidas à fotorredução empregando uma lâmpada de mercúrio de 100 W e dióxido de titânio a pH 9 e 0°C. O mercúrio deposita-se na superfície do dióxido de titânio, podendo ser recuperado em 1,5 hora sob fluxo de nitrogênio a 100°C.

d. Vidros contaminados com mercúrio podem ser tratados com polissulfeto de cálcio obtendo-se o sulfeto de mercúrio.
e. Pode-se reduzir a concentração de mercúrio de soluções com concentrações acima de 2 µg por litro, pela filtração por meio de polímeros de silicone ligados covalentemente a etileno diamina (EDA). Um complexo estável de mercúrio se forma na superfície do polímero.

Mercúrio metálico

Para recolher mercúrio metálico derramado, use aspiradores especiais, projetados para coletar gotas de mercúrio de maneira segura. Na ausência deles, coletar, por sucção, as gotas de mercúrio. Pode-se utilizar uma pipeta de Pasteur ou um tubo capilar longo adaptado a um frasco de segurança recheado com fios de cobre metálico e a uma bomba de vácuo. Alternativamente, pode-se utilizar um fio de cobre metálico para recolher gotas de mercúrio. O mercúrio forma uma amálgama com o cobre. Para separar os dois metais, basta bater delicadamente o fio de cobre contra um frasco plástico. Em qualquer caso, deve-se manter o mercúrio metálico sob água em um frasco hermeticamente fechado. Caso não seja possível recolher o mercúrio por sucção, deve-se cobrir com enxofre em excesso, pó de zinco ou polissulfato de cálcio. A recuperação pode ser feita por tratamento químico ou por destilação (Figuras 9 e 10). A disposição final pode ser em aterro para resíduos industriais ou por meio do encapsulamento por cimentação ou vitrificação.

Tratamento químico: As lavagens são feitas em kitassatos fechados com rolha contendo um tubo de vidro conectado a uma bomba de vácuo. Um frasco de segurança com cobre metálico deve ser mantido entre o kitassato e a bomba. O processo a seguir deve ser repetido quantas vezes forem necessárias:

- Filtrar o mercúrio (fazer pequenos furos no papel de filtro para que o mercúrio passe). O óxido de mercúrio ficará aderido ao papel.
- Lavar com solução aquosa 1 M de HNO_3.
- Lavar com água destilada.
- Lavar com solução aquosa de NaOH 10%.
- Lavar com água destilada.
- As águas de lavagem devem ser reunidas e tratadas conforme o descrito no item “Sais de mercúrio”.

Sais de crômio VI

- Ajustar o pH da solução que contém crômio VI, abaixo de 3, utilizando ácido sulfúrico a 3 mol/L.
- Adicionar tiossulfato ou bissulfito de sódio sob agitação e deixar reagir por 5 minutos.
- Elevar o pH a 9,5 adicionando NaOH ou óxido de cálcio.
- Filtrar imediatamente ou deixar por uma semana e decantar.
- Testar o líquido sobrenadante até que não ocorra mais precipitação.
- Neutralizar e despejá-lo na pia.



Figura 9. Lavagem de mercúrio metálico.



Figura 10. Destilação de mercúrio metálico.

- O precipitado $Cr(OH)_3.3H_2O$ deve ser guardado em frasco coletor para ser enviado para aterro classe I.
- Alternativamente, o precipitado pode ser seco em mufla (1 hora acima de 800°C) para diminuir a massa de resíduo a ser enviado para aterro, já que estará como Cr_2O_3.
- Sais de crômio III
- Ajustar o pH em 9,5 com NaOH.
- Verificar se a precipitação foi completa pela adição de uma quantidade adicional de NaOH.
- Repetir até não haver mais precipitado.
- O líquido sobrenadante deve ser neutralizado e logo depois despejado no esgoto comum.
- O sólido $Cr(OH)_3.3H_2O$ tem de ser guardado em frasco coletor para ser enviado para aterro classe I.
- Alternativamente, o precipitado pode ser seco em mufla (1 hora acima de 800°C) para diminuir a massa de resíduo a ser enviado para aterro, já que estará como Cr_2O_3.

Sais de níquel

Os íons de níquel podem ser precipitados como sulfeto, ajustando o pH da solução para 7 até a completa precipitação. Filtrar os insolúveis e enviar para aterro classe I. Destruir qualquer excesso de sulfeto com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio. Drenar a fase líquida isenta de níquel e sulfeto para o esgoto. Alternativamente, pode-se precipitar o cádmio na forma de hidróxido. Para tanto:

- Adicionar NaOH até ajustar o pH em 7 a 8.
- Testar se a precipitação foi completa com uma solução de dimetilglioxima a 1% em 1-propanol.
- Se ainda houver níquel na solução, esta ficará vermelha e será necessário repetir o procedimento.
- O sólido formado deve ser guardado no frasco coletor.
- O líquido sobrenadante pode ser descartado na pia.

Sais de selênio

O selênio pode ser transformado em selênio elementar com ácido nítrico concentrado, em capela. Filtrar o selênio elementar após adição de hidrogenossulfito sódico. Pode ser reciclado.

A Tabela 3 apresentada a seguir traz as faixas de pH ideais para a precipitação de metais na forma de óxido ou hidróxido[24]. Para os casos em que a faixa de pH se estende até 14, não haverá dissolução do precipitado em excesso de base.

Uma alternativa utilizada quando da geração de resíduos aquosos de metais pesados envolve a concentração dos referidos resíduos, seja por evaporação natural, pela aplicação de destiladores solares ou ainda por aquecimento em chapa elétrica. Nesses casos, o metal não será tratado, mas ocorrerá diminuição do volume de resíduo a ser enviado para aterro[25] .

Métodos para tratamento de cianetos

O cianeto de potássio e todos os outros cianetos são venenos mortais, por isso é necessário tomar muito cuidado ao utilizá-lo. Recomenda-se usar uma bureta e jamais uma pipeta. Ele é bastante utilizado para mascarar os íons Fe^{+3} na determinação de Ca^{+2} e Mg^{+2} na água (dureza). Somente os cianetos dos metais alcalinos e alcalinos terrosos são solúveis em água, e as suas soluções produzem reações alcalinas em decorrência da hidrólise:

$$CN^- + H_2O \rightarrow HCN + OH^-$$

Tabela 3. Faixas de pH para a precipitação de metais pesados como óxidos ou hidróxidos.

Íon	Faixa de pH	Íon	Faixa de pH	Íon	Faixa de pH	Íon	Faixa de pH	Íon	Faixa de pH
Ag^{+1}	9-14	Cu^{+2}	7-14	Mn^{+2}	8-14	Re^{+7}	*	Te^{+4}	*
Al^{+3}	7-8	Fe^{+2}	7-14	Mn^{+4}	7-14	Rh^{+3}	7-8	Te^{+6}	*
As^{+3}	*	Fe^{+3}	7-14	Mo^{+6}	**	Ru^{+3}	7-14	Th^{+4}	6-14
As^{+5}	*	Ga^{+3}	7-8	Nb^{+5}	1-10	Sb^{+3}	7-8	Ti^{+3}	8-14
Au^{+3}	7-8	Ge^{+4}	6-8	Ni^{+2}	8-14	Sb^{+5}	7-8	Ti^{+4}	8-14
Be^{+2}	7-8	Hf^{+4}	6-7	Os^{+4}	7-8	Sc^{+3}	8-14	V^{+4}	7-8
Bi^{+3}	7-14	Hg^{+1}	8-14	Pb^{+2}	7-8	Se^{+4}	*	V^{+5}	7-8
Cd^{+2}	7-14	Hg^{+2}	8-14	Pd^{+2}	7-8	Se^{+6}	*	W^{+6}	**
Co^{+2}	8-14	In^{+3}	8-13	Pd^{+4}	7-8	Sn^{+2}	7-8	Zn^{+2}	7-8
Cr^{+3}	7-14	Ir^{+4}	6-8	Pt^{+2}	7-8	Sn^{+4}	7-8	Zr^{+4}	6-7
Cu^{+1}	9-14	Mg^{+2}	9-14	Re^{+3}	6-14	Ta^{+5}	1-10		

* Precipitar como sulfeto

** Precipitar como sal de cálcio

Alguns métodos de descartes encontram-se a seguir:

a. NaOH e NaClO:

- Adicionar uma solução NaOH a 10% à solução com os sais de cianeto (CN^{-1}) para tornar o pH alcalino (pH 8 a 9).
- Acrescentar solução de hipoclorito de sódio (para uso domiciliar) lentamente e sob agitação.
- Verificar se há cianeto presente no sobrenadante.
- Caso isso aconteça, repetir o procedimento.
- Excesso de oxidante deve ser tratado com tiossulfato de sódio.
- Esse método não serve quando o resíduo contém muito cianeto, pois pode haver produção de gás cloreto de cianogênio (ClCN), que é extremamente tóxico. Nesse caso, recomenda-se a utilização de peróxido de hidrogênio.

b. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2):

- Adicionar uma solução NaOH a 10% à solução com os sais de cianeto (CN-1) até pH 10 a 11.
- Adicionar H_2O_2 a 30%, colocando na relação 5:1 com cianeto.
- Deixar a reação ocorrer à noite toda.
- Descartar o resíduo na pia após garantir que todo o cianeto tenha sido destruído.

c. Sulfato ferroso:

Recomenda-se a desativação do cianeto com sulfato ferroso. Este método é sensível e executado em meio alcalino (pH 10) utilizando NaOH.

- Adicionar 1 g de sulfato ferroso para cada 0,2 g de cianeto utilizado, para converter o íon CN^{-1} em ferrocianeto [$Fe(CN)^{6-4}$].
- Acidular com HCl (até a completa neutralização).
- Uma solução clara e um precipitado chamado azul da Prússia serão formados.
- O resíduo líquido pode ser descartado no esgoto comum.
- O sólido formado pode ser guardado para futura utilização como corante.

$$6\ CN^- + Fe^{+2} \rightarrow [Fe\ (CN)_6]^{-4}$$
$$[Fe\ (CN)_6]^{-4} + Fe^{+3} \rightarrow Fe_4[Fe\ (CN)_6]_3$$

Descarte de fenol e soluções com fenol

O fenol pode ser descartado por meio de sua reação de polimerização com o formaldeído, resultando em uma resina que pode ser eviada para aterro (Figura 11). A reação é a seguinte: fenol + formaldeído em meio alcalino a 70°C.

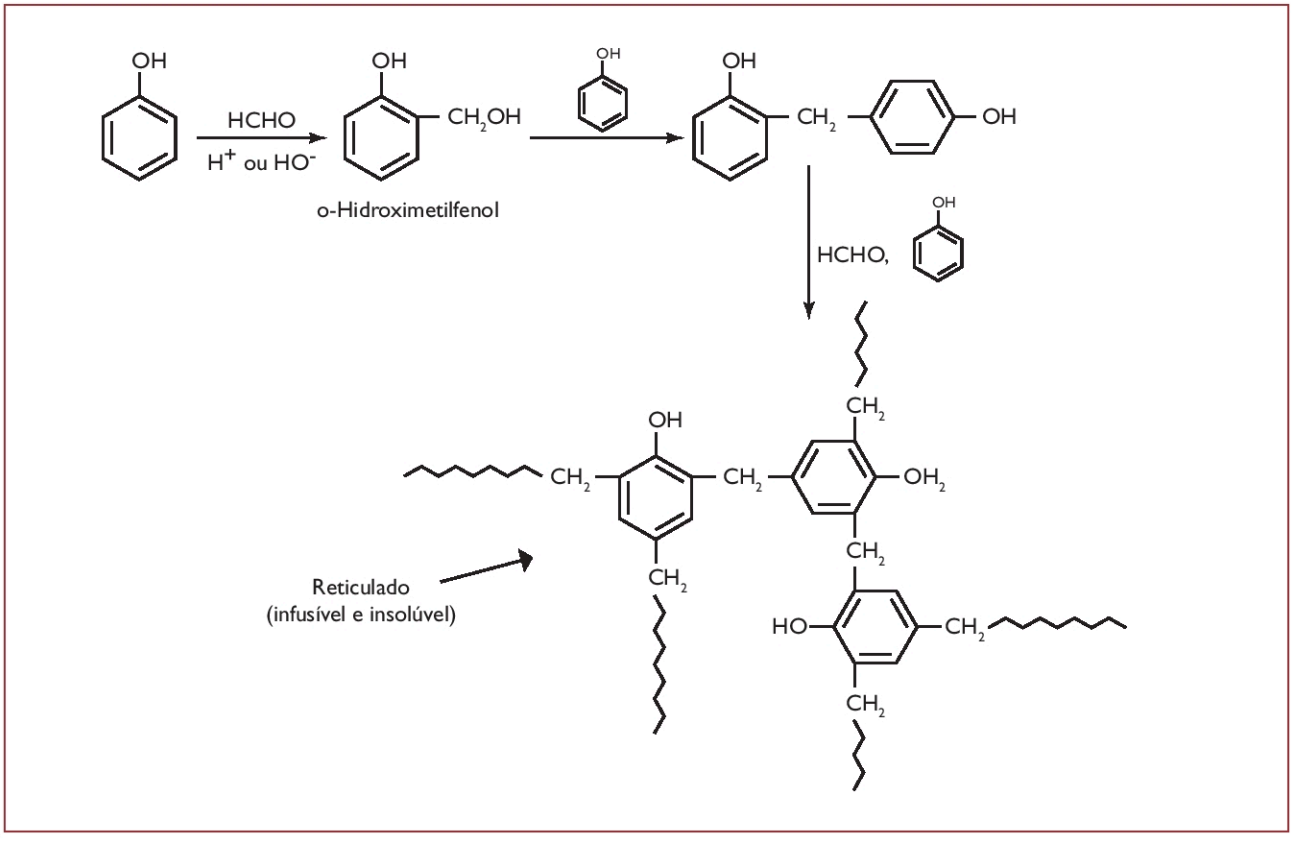


Figura 11. Reação de polimerização entre formaldeído e fenol.

Procedimentos para reciclagem ou degradação de solventes

Resíduos constituídos de solventes usuais de laboratório como acetato de etila (P. E. = 77°C), acetona (P. E. = 56°C), acetonitrila (P. E. = 81,6°C), benzeno (P. E. = 80°C), ciclo-hexano (P. E. = 80,7°C), clorofórmio (P. E. = 61°C), diclorometano (DCM) (P. E. = 40°C), etanol (P. E. = 78°C), éter etílico (P. E. = 34,5°C), hexanos (P. E. = 60 - 70°C), n-hexano (P. E. = 69°C), isopropanol (P. E. = 82°C), metanol (P. E. = 64°C), tetracloreto de carbono (P. E. = 76°C), tolueno (P. E. = 110,6°C) e xileno (P. E. = 138-144°C), entre outros, quando recolhidos quase puros, podem ser recuperados por destilação sem tratamento prévio (Figura 12) ou após lavagem com água, seguida de secagem sobre $CaCl_2$ ou $MgSO_4$. Preferencialmente, recomenda-se a utilização de destilação fracionada para obtenção de solventes com maior grau de pureza[21,27].

Resíduos de solventes que estão contaminados com compostos de enxofre ou selênio podem ser purificados com o emprego de carvão ativo. Para tanto, são previamente destilados e, em seguida, passam, por gravidade, por meio de uma coluna de vidro repleta sequencialmente de alumina ácido, carvão ativo e KOH[28]. O material eluído é destilado outra vez antes de ser devolvido para reúso.

Resíduos de acetato de etila devem ser previamente secos com sulfato de magnésio, já que este éster se hidrolisa facilmente na presença de água. Para destruir pequenas quantidades de acetato de etila, pode-se empregar a hidrólise utilizando excesso de NaOH em água, segundo a equação: $CH_3COOEt + NaOH = H_3COONa + EtOH$. Resíduos de éter etílico devem estar isentos de peróxido durante sua recuperação, para evitar perigo de explosão na destilação. Assim, recomenda-se adicionar sulfato ferroso ($FeSO_4$), pirogalol ou hidroquinona ao armazenar os resíduos de éter, principalmente se estes ficarem estocados por muito tempo. Para testar a presença de peróxidos no éter, pode-se fazer o seguinte teste: dissolver 100 mg de iodeto de potássio em 1 mL de ácido acético glacial e adicionar a 1 mL do éter etílico a ser testado. Uma coloração amarela pálida indica baixa concentração de peróxido. Colorações de amarelo intenso à marrom indicam altas concentrações de peróxido na amostra. Para remover peróxidos, coloque o éter etílico (100 mL) em um funil de separação e agite com uma solução aquosa de metabissulfito de sódio recém-preparada (20 mL) por 3 minutos. Separe as fases, lave o éter com água e teste novamente a presença de peróxidos. Repita o procedimento até que o teste dê negativo[17]. Alternativamente, pode-se destruir o peróxido tratando o éter com uma solução de iodeto de potássio.

Dissulfeto de carbono (P. E. = 46°C), solvente usado como solvente e/ou como reagente na síntese de carbamato, também pode ser recuperado por destilação. Alternativamente, pode ser decomposto pela: oxidação com hipoclorito de cálcio, a 20 a 30°C, por 2 horas, a CO_2 e H_2SO_4.

Alguns resíduos de solventes são gerados como misturas em função do processo em que foram utilizados.



Figura 12. Destilador de solventes.

Por exemplo, na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou, em inglês, HPLC), são geradas misturas de acetonitrila/água, metanol/água, acetonitrila/metanol, entre outras. Já na cromatografia em coluna, são gerados grandes volumes de resíduos constituídos de hexanos e acetato de etila e, nos processos de extração, é comum a geração de resíduos de solventes clorados ou hexanos misturados a álcoois ou cetonas.

Tanto as misturas de solventes clorados com álcoois ou acetona quanto as de hexanos com álcoois ou acetona podem ser lavadas com HCl aquoso e água para remoção dos solventes hidrossolúveis (Figura 13)[21,27]. Após secagem e destilação, os solventes clorados ou os hexanos podem ser reutilizados. O mesmo processo pode ser aplicado para outras misturas que tenham como principal componente um solvente imiscível em água e, como contaminante, outro solvente miscível em água.

Pode-se recuperar acetonitrila proveniente de resíduos de acetonitrila/água gerados em análises por CLAE após congelamento, seguido de decantação, destilação do azeótropo, secagem com $CaCl_2$ e nova destilação[29,30,31]. Cabe ressaltar que, do ponto de vista econômico, tais operações sequenciais podem não ser interessantes, tornando a recuperação de acetonitrila inviável. Assim, recomenda-se que a recuperação seja efetuada a partir de soluções concentradas de acetonitrila. Outros resíduos gerados em cromatografía líquida, como metanol/água e isopropanol/água, podem fornecer o respectivo álcool recuperado após destilação em 96 e 88% em massa, respectivamente, já que esses compostos constituem misturas azeotrópicas com água.

A separação dos componentes de misturas de hexanos/acetato de etila é complicada, tanto pelo fato de o hexano ser comercializado como uma mistura de isômeros (metil-pentanos, dimetil-butanos etc., sem ponto de ebulição definido) quanto pelo fato de o n-hexano formar azeótropo de mínimo com acetato de etila, o que impossibilita a separação deles (P. E. = 65°C, 62% de n-hexano, em massa). Assim, para que se possa recuperar pelo menos os hexanos, efetua-se a hidrólise do acetato de etila empregando-se meio alcalino (hidróxido de potássio em água, a frio[27]) (Figura 14) ou via biodegradação[32]. Após a hidrólise, as fases orgânica e aquosa são separadas, e a fase orgânica é seca sobre $CaCl_2$.

A presença de solventes com pontos de ebulição relativamente diferentes em misturas é recuperada de maneira fácil por destilação fracionada. Por exemplo, é possível citar as misturas de n-hexano e diclorometano; ciclo-hexano e metanol; e xilol, etanol, parafina e detergente.

No primeiro caso, a destilação fracionada permite a recuperação de uma mistura rica em diclorometano que pode ser aplicada em extrações, além de n-hexano puro. No segundo caso, os dois solventes são obtidos em alto grau de pureza[25]. A última mistura, quando submetida a destilação fracionada, permite a recuperação de etanol, xilol e parafina (P.F. 58 a 62°C)[33].

Em todos os casos, os solventes recuperados devem ser submetidos a análises que certifiquem sua pureza, como medida de índice de refração, cromatografia gaso-

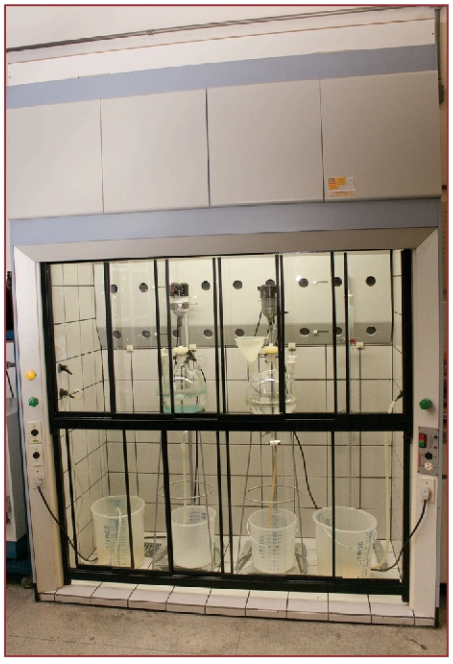


Figura 13. Lavagem de solventes.



Figura 14. Hidrólise química do acetato de etila.

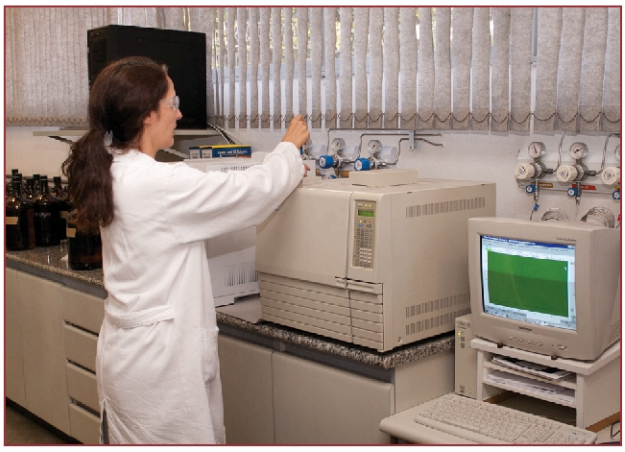


Figura 15. Cromatógrafo a gás.

sa (Figura 15), espectrometria de massas, UV e, dependendo da aplicação do material, análise bacteriológica.

Orientação para descarte de solventes

Quanto mais misturados os resíduos de solventes, mais cara a incineração. Os clorados devem ser separados. A incineradora não aceita flúor, metais, ácidos e bases concentradas. Os cancerígenos têm de ser identificados. Os combustíveis barateiam o custo da incineração, e os vidros devem ser identificados.

Documentação exigida:

- Análise do produto a ser incinerado (empresa/instituição certificada)
- Certificado de aprovação CADRI (Cetesb)
- Folha adicional – Manual de Caracterização do Empreendimento MCE (Cetesb)
- Manifesto de transporte
- Rótulo para recipiente de transporte
- Embalagem homologada pelo INMETRO
- Placas de identificação de resíduo perigoso para veículo transportador
- Autorização para o transporte (diretor da empresa/instituição)
- Responsável para transporte (funcionário da empresa/instituição)
- Previsão da quantidade anual (empresa/instituição e Cetesb)

Métodos para tratamento de substâncias pirofóricas

Hidretos alcalinos, alcalimidas, dispersões metálicas

Em capela com escudo protetor, suspender em dioxano e adicionar etanol ou isopropanol lentamente, agitando, até reação completa. Adicionar, então, com cuidado, água até solução clara. Neutralizar. Enviar a fase orgânica resultante para incineração. Neutralizar a fase aquosa antes de descartá-la em rede de esgoto.

Hidreto de alumínio e lítio

Suspender em éter, tetra-hidro furano (THF) ou dioxano. Adicionar acetato de etila gota a gota até consumo completo eventualmente em banho de gelo. Adicionar uma solução ácida 2N até clarificação. Enviar o líquido resultante para incineração.

Boroidretos alcalinos

Dissolver em metanol e diluir com água. Acrescentar etanol com agitação até solução completa e clara. Neutralizar. Enviar o líquido resultante para incineração.

Organolítios e reagentes de Grignard

Dissolver ou suspender em um solvente inerte (éter etílico, dioxano, tolueno). Adicionar álcool, depois água e ácido 2N, até clarificação. Enviar o líquido resultante para incineração.

Sódio metálico

Adicionar em pedaços pequenos a etanol ou isopropanol secos; deixar repousar até todo o metal dissolver. Acrescentar água cuidadosamente até solução clara. Neutralizar. Enviar o líquido resultante para incineração.

Potássio metálico

Colocar em n-butanol ou terc-butanol. Dissolver com aquecimento ligeiro, diluir com etanol e, em seguida, água. Neutralizar. Enviar o líquido resultante para incineração.

Trialquil-alumínio

São extremamente sensíveis à hidrólise. Para o manejo seguro desses compostos, recomenda-se utilizar seringas e cânulas. Destruir restos por lenta adição, sob condições anidras, em butanol seco diluído em éter/THF secos. Neutralizar e filtrar sólidos. Incinerar o líquido.

Catalizadores de hidrogenação

Para citar alguns exemplos, Níquel de Raney e paládio sobre carvão nunca podem ser descartados no lixo

comum, pois há o risco de incêndio, já que são extremamente inflamáveis.

Compostos organometálicos sensíveis à hidrólise e dissolvidos em solventes orgânicos

São gotejados com cuidado e sob agitação em n-butanol, em capela com janela de proteção fechada. Essa operação deve ser realizada em capela porque há formação de gases inflamáveis. Cessada a liberação de gases, continuar a agitação por mais 1 hora e adicionar excesso de água. A fase orgânica deve ser enviada para incineração e a fase aquosa, neutralizada antes de ser enviada para rede de esgoto.

Métodos para tratamento de substâncias oxidantes

- Cloro, bromo ou dióxido de enxofre gasosos

  Absorver em NaOH a 2M ou hidóxido de amônia. Tratar a solução resultante como resíduo de hipoclorito, hipobromito e sulfito, respectivamente.

- Peróxidos inorgânicos e oxidantes como soluções de cloro, bromo ou iodo

  Reduzir com solução de bissulfito ou tiossulfato de sódio ou potássio; neutralizar. Descartar em pia.
- Peróxidos orgânicos

  Destruir com redutores fracos.

Métodos para tratamento de substâncias redutoras

- Ácido sulfídrico, tióis, tiofenóis, ácido cianídrico, brometo e cloreto de cianogênio, fosfina, soluções com cianetos ou sulfetos, nitrilas

  Oxidar com hipoclorito em excesso e encaminhar os resíduos do tratamento de tióis, tiofenóis e nitrilas para incineração. Em particular para um mol de mercaptana, adicionar cerca de 2 L de solução de hipoclorito de sódio (9 moles de cloro ativo), e para um mol de cianeto adicionar cerca de 0,4 L de hipoclorito. De forma geral, recomenda-se um excesso de hipoclorito. Os cianatos formados a partir dos cianetos podem ser descartados na pia.

Métodos para tratamento de substâncias corrosivas

- Cloretos de ácido, anidridos de ácido, Pcl3, Pocl3, Pcl5, cloreto de tionilo, cloreto de sulfurilo

  Acrescentar com extremo cuidado NaOH a 2 M ou muita água. Neutralizar e descartar em rede de esgoto.

- Ácido clorossulfônico, ácido sulfúrico concentrado e fumegante, ácido nítrico concentrado

  Adicionar o ácido sobre a água gelada cuidadosamente com agitação e devagar. Neutralizar e descartar em rede de esgoto.

- Gases ácidos como cloreto, brometo e iodeto de hidrogênio e fosgênio

  Borbulhar em solução diluída de NaOH. O pH tem de ser controlado.

Métodos para tratamento de outras substâncias

- Sulfato de dimetila, iodeto de metila

  Adicionar cuidadosamente hidróxido de amônia a 50%. Neutralizar e enviar para tratamento térmico.

  O material sujo deve ser lavado com hidróxido de amônia a 50%.

- Soluções de ácido pícrico

  Em um balão de 3 bocas (fundo redondo) equipado com funil de adição e condensador e resfriado em banho de gelo, adicionar 1 g de resíduo e 4 g de Sn. Agitar e, usando o funil, adicionar 15 mL (gota a gota) de HCl concentrado. Após adição de todo o ácido, aquecer até o refluxo e deixar por 1 hora. Filtrar o Sn restante, que deve ser tratado com 10 mL de HCl 2 mol/L. O filtrado é neutralizado. O triaminofenol pode ser incinerado ou tratado quimicamente. Essa reação deve ser feita atrás de um escudo, já que há risco de explosão.

- Aldeídos hidrossolúveis

  Tratar com $NaHSO_3$ para conversão em adutos de bissulfitos. Encaminhar o material resultante para tratamento térmico.

- Azidas

  Tratar com iodo na presença de tiossulfato de sódio.

- Fluoreto inorgânico e ácido fluorídrico

  Tratar com $CaCO_3$, o que causa a formação de fluoreto de cálcio (CaF_2), que deve ser filtrado e enviado para aterro classe I. A solução aquosa pode ser descartada em rede de esgoto após neutralização e desde que não contenha fluoreto acima do limite previsto em lei.

- Compostos de fósforo

  Oxidar sob gás inerte em capela com janela de proteção frontal. Preparar 100 mL de solução de NaClO a 5% com 5 mL de solução de NaOH a 50% para cada grama de composto de fósforo a ser tratado. Gotejar a solução de composto de fósforo na solução preparada resfriando o recipiente com gelo. Adicionar hidróxido

de cálcio e filtrar os fosfatos precipitados. Neutralizar a fase líquida.

Resíduos sólidos de processos cromatográficos

Resíduos originados em processos cromatográficos ou substâncias tóxicas em suportes cromatográficos devem ser eliminados por métodos adequados de extração antes de descartá-los. Suportes de colunas têm de ser liberados de solventes por filtração e secagem e acondicionados em recipientes adequados para serem enviados para recuperação[34] ou tratamento térmico.

Teste para verificação de peróxido

Em um frasco tipo proveta com tampa de vidro e protegido da luz, adicione 1 mL de solução aquosa de KI a 10% (m/v) recém-preparada a 10 mL do solvente orgânico sob teste. Observe a cor contra um fundo branco. Se estiver amarelo ou castanho, existe peróxido. Pode ser removido passando o solvente por uma coluna de alumina.

Resíduos de embalagens de produtos químicos

Coletar frascos vazios de vidro, plástico ou metal em sacos plásticos. Antes, porém, lavá-los adequadamente e retirar os rótulos, conforme descrito no item "recipientes de coleta, armazenamento e transporte".

Recuperação de materiais de lodos galvânicos por meio de plasma térmico

O tratamento de águas do processo galvânico resulta em um lodo com 70% de umidade que necessita de tratamento por conter metais pesados. Todos os processos atualmente utilizados apresentam fortes restrições ambientais e econômicas. A seguir, descrevemos um novo processo baseado no uso da tecnologia de plasma. O processo a plasma é completo, definitivo e limpo, não gerando outros resíduos perigosos.

Inicialmente, o lodo galvânico é seco de 70 para 10% de umidade e enviado para o reator a plasma, cuja temperatura interior se situa entre 1.800 e 2.300 K. O lodo sofrerá reações químicas que incluem a transformação da sílica e carbonato de cálcio (agentes fluxantes) em uma fase líquida, enquanto o ferro e outros metais que não se volatilizaram formarão outra fase líquida dentro do reator. Os óxidos metálicos serão reduzidos, em função do redutor adicionado. Alguns metais, em particular o zinco, serão volatilizados e coletados em um condensador, enquanto a maior parte dos metais pesados contidos no lodo serão incorporados em uma matriz férrea e em uma matriz vítrea em menor quantidade. Nessa matriz, os metais estão quimicamente ligados ao ferro, e esta se transforma em um subproduto inerte, que pode ser utilizado em pavimentação ou construção, descartado sem risco ambiental ou vendido para processos metalúrgicos.

Tratamento de gases e voláteis em laboratórios

Para uso em pequena escala (laboratórios de ensino e pesquisa), a indicação mais adequada e viável é provavelmente o uso de frascos lavadores, pelos seguintes motivos:

a. São dispositivos comuns e a preço acessível no comércio de vidrarias para laboratórios.
b. Podem ser encontrados em diversos tamanhos e em vários tipos de saída com vidro sintetizado. Há também versões cujos bicos de saída (pescador) são construídos com vidro sintetizado especial para melhor fragmentação das bolhas de gás ou vapor, opção muito importante para captação de algum tipo de efluente pouco comum.
c. São utilizáveis para gases ou vapores ácidos, alcalinos, oxidantes, redutores, tóxicos, incondensáveis etc., em função do auxílio de pequenas adaptações viáveis de serem implantadas.
d. Podem ser utilizados em série, sem aumento significativo do custo, melhorando bastante a eficiência da depuração ou neutralização.
e. Permitem a inserção de recursos para casos especiais, como a utilização de uma câmara com um solvente não tóxico para captar outro solvente perigoso da mesma família ou de característica fisico-química. É o caso da captação de benzeno por borbulhamento em hexano. Posteriormente, ambos são eliminados por incineração.

Dispositivo lavador

Trata-se de um frasco de boca larga na qual está inserida uma tampa que contém um tubo de vidro que chega até o fundo do frasco. Esse tubo recebe os gases da reação e os conduz até a solução neutralizadora adequada. Caso seja necessário, existe também na tampa uma saída que pode ser adaptada a outro frasco lavador com outra solução lavadora, e assim por diante. Há ainda a possibilidade de se introduzir, no conjunto, uma solução indicadora que denunciará a saturação da solução neutralizante.

Outro tipo também eficiente é a coluna com enchimento. Consiste em uma coluna de PVC que utiliza vidro sinterizado como material de enchimento. A água ou solução neutralizante entra pela parte superior da coluna, e o gás é introduzido pela base. O líquido

descendente e o gás ascendente misturam-se intimamente por meio do vidro sinterizado, resultando em um gás efluente que sai pelo topo da coluna lavado e um líquido contaminado drenado por uma câmara localizada na parte mais baixa da coluna, que deve sofrer tratamento convencional para resíduos perigosos. A exemplo dos frascos lavadores, é possível também o uso de várias colunas em série ou a inserção de dispositivos para melhorar a eficiência da lavagem, da depuração ou da neutralização.

Funcionamento do lavador de gases

O lavador de gases industrial está esquematizado na Figura 16 e consiste em um cilindro vertical construído de metal, plástico ou fibra de vidro, dispondo de um tubo de entrada na base para a corrente gasosa contendo gases tóxicos, vapores e partículas; um tubo de entrada de uma solução de lavagem no topo, contendo usualmente NaOH; um tubo de saída no topo para o gás limpo; e um tubo de saída na base para a saída da solução, ou suspensão aquosa, contendo as partículas, gases e vapores tóxicos provenientes da corrente gasosa tóxica. A corrente gasosa tóxica percorre o lavador de gases de baixo para cima e entra em contato com a solução de lavagem que escoa no sentido oposto, havendo uma grande área de contato entre as duas correntes e permitindo a transferência dos poluentes para a solução aquosa. Como resultado do processo, a corrente gasosa tóxica é limpa, deixando o topo da coluna com baixa concentração de poluentes, que deve estar dentro dos limites máximos impostos pelo órgão legislador ambiental. Por outro lado, a corrente de solução aquosa na saída do equipamento contém a maior parte dos poluentes (gases, vapores e partículas) que estavam contidos na corrente gasosa tóxica. Essa solução aquosa deverá então ser encaminhada para o tratamento de efluentes antes de ser descartada no meio ambiente. O projeto mecânico desse equipamento requer conhecimentos de engenharia para determinar o diâmetro da coluna (que permita o escoamento adequado das correntes gasosa ascendente e líquida descendente) e da altura (que influencia a eficiência de remoção dos poluentes da corrente gasosa). A eficiência também pode ser melhorada pelo aumento da área superficial entre a corrente gasosa e a corrente líquida. Isso pode ser conseguido com a pulverização da corrente líquida, por meio de dispersão em chuveiros e bicos dispersores ou por meio da introdução, na parte interna da coluna, de pequenas peças metálicas ou de plástico (recheios) que permitam que o líquido percole esses internos, molhando-os. Dessa forma, haverá também um aumento do tempo de permanência dos gases e líquido no interior da coluna, além do aumento da área superficial de contato entre o gás e a solução aquosa.

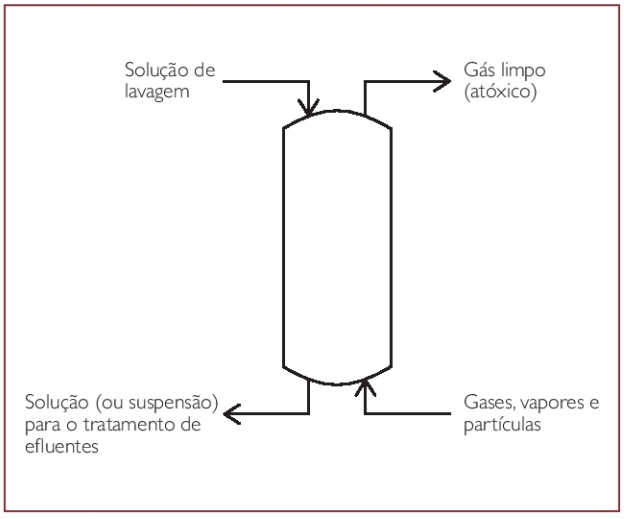


Figura 16. Esquema de um lavador de gases.

Manuseio e armazenamento de produtos químicos

Produtos químicos devem ser armazenados em frascos apropriados devidamente rotulados de modo permanente. É importante substituir ou providenciar a substituição imediata de rótulos ilegíveis ou danificados; informar-se sempre sobre a toxicidade e periculosidade dos produtos químicos a serem utilizados; evitar qualquer contato de produtos químicos com a pele; nunca pipetar produtos químicos com a boca; utilizar sempre pipetadores; registrar o ponto de fulgor dos produtos inflamáveis (ponto de fulgor ou ponto de inflamação é a menor temperatura na qual um combustível libera vapor em quantidade suficiente para formar uma mistura inflamável por uma fonte externa de calor. O ponto de fulgor não é suficiente para que a combustão seja mantida).

Segundo a NR 20 de 1978, os líquidos inflamáveis têm a segunite classificação:

- Classe I: ponto de fulgor abaixo de 37,7°C.
- Classe II: ponto de fulgor de 37,7°C a 70°C.
- Classe III: ponto de fulgor de 70°C a 93,3°C.

Produtos da Classe I só podem estar presentes no local de trabalho armazenados em recipientes com capacidade de até 0,5 L, no máximo. A quantidade não pode ultrapassar 5 L. Produtos com tendência à formação de peróxidos (como éter etílico, tetra-hidrofurano, dioxano etc.) devem ser submetidos a processos de eliminação de peróxidos antes da utilização, especialmente antes de ser

destilados. Metais alcalinos, hidretos e amidas metálicas têm de ser manipulados em estrita ausência de água. Banhos de água ou vapor são proibidos. Derrames desses produtos (incluindo mercúrio) devem ser imediatamente eliminados. Os metais alcalinos podem reagir explosivamente com solventes halogenados. No trabalho com hidrogênio, é obrigatório verificar a ausência de fugas a fim de eliminar a formação de misturas hidrogênio-ar explosivas (> 6% H_2). Todos os derrames de produtos químicos devem ser eliminados de imediato! Não se deve lançar solventes no esgoto. É obrigatória a sua deposição nos contentores adequados. Todas as reações com substâncias irritantes, tóxicas ou fortemente odoríferas têm de ser efetuadas em local adequadamente ventilado ou em capelas.

1. Leia o rótulo antes de abrir a embalagem.
2. Verifique se a substância é realmente aquela desejada.
3. Considere o perigo de reações entre substâncias químicas e utilize equipamentos e roupas apropriadas.
4. Abra as embalagens em áreas ventiladas.
5. Tome cuidado durante a manipulação e uso de substâncias químicas perigosas utilizando métodos que reduzam o risco de inalação, ingestão e contato com a pele, olhos e roupas.
6. Feche muito bem as embalagens após o uso.
7. Não utilize aparelhos e instrumentos contaminados.
8. Não coma, beba ou fume enquanto estiver manuseando substâncias químicas.
9. Lave as mãos e áreas expostas regularmente.
10. Procure atendimento médico imediatamente no caso de ser afetado por substâncias tóxicas.

Os reagentes não devem ser estocados de forma aleatória ou por ordem alfabética, pois nesse caso está sendo desrespeitada a incompatibilidade, definida como "Condição sobre a qual determinadas substâncias se tornam perigosas quando manipuladas ou colocadas próximas as outras, com as quais poderão reagir criando situações de perigo ou risco".

Normas gerais

1. Estocar em áreas bem ventiladas protegidas ao extremo de temperatura e fontes de ignição.
2. Assegurar-se de que as substâncias químicas não sejam manipuladas por pessoas sem autorização.
3. Inspecionar o estoque periodicamente e retirar as substâncias em deterioração.
4. Subdividir o estoque para reduzir os riscos.
5. Não fumar onde as substâncias químicas são estocadas.
6. Transportar embalagens com produtos químicos com cuidado.

Oxidantes

Não se deve colocar, armazenar ou guardar substâncias oxidantes próximas a líquidos voláteis e/ou inflamáveis. Os peróxidos merecem atenção redobrada, pois apresentam perigo quanto à periculosidade e à estabilidade.

Solventes voláteis e inflamáveis

Solventes voláteis e inflamáveis devem ser guardados em armários refrigerados e livres da possibilidade de ocorrência de faíscas.

Cilindros de gás

Os cilindros de gás não devem ser guardados no laboratório. O armazenamento deve ser feito em local amplo, fora das áreas de circulação, coberto e bem ventilado. O material deve permanecer trancado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a publicação da primeira edição deste Manual de Biossegurança em 2002, o gerenciamento adequado de produtos e resíduos químicos perigosos em instituições de ensino e pesquisa evoluiu muito, haja vista o grande número de publicações geradas no período por instituições públicas e privadas.

O meio acadêmico deve agora ampliar o desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de encontrar novas soluções, mais eficientes e de menor custo ambiental, para o tratamento e descarte de resíduos químicos perigosos. Com essas novas pesquisas, haverá a conscientização e formação de pessoas dessa área em diversos níveis, desde a iniciação científica até o doutoramento, o que também gerará publicações e a consequente divulgação dos novos conhecimentos.

O meio acadêmico também deverá colaborar com órgãos civis para difundir as novas técnicas desenvolvidas, que deverão, nesse caso, ser redigidas de modo que facilite o entendimento para ser acessível a toda a sociedade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Machado PFL, Mol GS. Resíduos e rejeitos de aulas experimentais: o que fazer? Química Nova na Escola. 2008;29:38-41.

2. Carvalho PR. Boas práticas químicas em biossegurança. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência; 1999.
3. American Chemical Society. Task Force on Laboratory Waste Management. Laboratory waste management: a guidebook. Washington: ACS; 1994. 250p.
4. Jardim WF. Gerenciamento de resíduos químicos em laboratório de ensino e pesquisa. Química Nova. 1998;21:671-73.
5. Ministério do Trabalho. Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho - Ficha de orientação para produtos químicos. 1. ed. São Paulo: Fundacentro; 1981.
6. Commission of the European communities. Organochlorine solvents. Health Riscks to Workers. 1. ed. Luxemburgo: Royal Society of Chemistry; 1986.
7. Schvartsman S. Produtos químicos de uso domiciliar, segurança e riscos toxicológicos. 2. ed. São Paulo: Almed; 1988.
8. Azevedo SMZ, Spalding SM. Gerenciamento de resíduos em laboratório oficial farmacêutico. 1. ed. Porto Alegre: UFRGS; 2009.
9. Gil ES. Aspectos técnicos e legais do gerenciamento de resíduos químico-farmacêuticos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 2007;43:19-29.
10. Oliveira NR. Gerenciamento e descarte de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa visando a preservação ambiental. [Dissertação]. Guarulhos, 1999. Universidade Guarulhos.
11. Merck. Manual para el laboratório. 1. ed. Darmstadt: Merck KgaA; 1998.
12. Afonso JC, Silveira JA, Oliveira AS, Lima RMG. Análise sistemática de reagentes e resíduos sem identificação. Química Nova. 2005;28:157-65.
13. Alloway BJ, Ayres DC. Chemical principles of environmental pollution. 2. ed. Londres: Chapman e Hall; 1997.
14. Manahan SE. Hazardous waste chemistry, toxicology and treatment. 1. ed. Michigan: CRC Press; 1990.
15. Chernow B. Farmacologia em terapia intensiva. 1. ed. Rio de Janeiro: Revintes; 1993.
16. Russel JB. Química geral. 2. ed. São Paulo: McGraw Hill; 2004.
17. Armour MA. Hazardous laboratory chemicals disposal guide. 2. ed. Londres: CRC Press; 1996.
18. Lunn G, Sansone EB. Safe disposal of highly reactive chemicals. J Chem Educ. 1994;71:972-6.
19. Committee on prudent practices for handling, storage, and disposal of chemicals in laboratories, national research council (Orgs.). Prudent practices in the laboratory: handling and disposal of chemicals. 1. ed. Washington: National Academy Press; 1995.
20. Committee on hazardous substances in the laboratory, national research council (Orgs.). Prudent practices for disposal of chemicals from laboratories. 1. ed. Washington: National Academy Press; 1995.
21. Smallwood I. Solvent recovery handbook. 1. ed. Great Britain: McGraw-Hill; 1993.
22. Kaufman JA. Waste disposal in academic instituition. 1. ed. Michigan: CRC Press; 1990.
23. Micaroni RCC, Bueno MIMS, Jardim WF. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. Química Nova. 2000;487-95.
24. Figuerêdo DV. Manual para gestão de resíduos químicos perigosos de instituições de ensino e pesquisa. 1. ed. Belo Horizonte: Conselho Regional de Química de Minas Gerais; 2006.
25. De Conto SM. Gestão de resíduos em universidades. 1. ed. Caxias do Sul: EDUCS; 2010.
26. Zancanaro Jr O. Segurança nas universidades. Revista CIPA. 2000;253:50-93.
27. Vogel AI. Química orgânica. 3. ed. São Paulo: Edusp; 1985.
28. Bahadir M. Identification and photodecomposition of highly toxic organic compounds in laboratory wastes. In: 2nd International Symposium on Residue Management in Universities. Santa Maria; 2004. Livro de Resumos. Santa Maria: UFSM; 2004. p. 27. Disponível em: http://w3.ufsm.br/isrmu/conferencias/Mufit_Bahadir_1.pdf. Acesso em: 25/5/2011.
29. Gu T, Gu Y, Zheng Y, Wiehl PE, Kopchick JJ. Phase separation of acetonitrile-water mixture in protein purification. Sep Technol. 1994;4:258-60.
30. Katusz R. Metal Recovery of HPLC grade acetonitrile by spinning band distillation. Journal of Chromatography. 1981;213:331-6.
31. Takamuku T, Yamaguchi A, Matsuo D, Tabata M, Kumamoto M, Nishimoto J, et al. Large-angle X-ray scattering and small-angle neutron scattering study on phase separation of acetonitrile-water mixtures by addition of NaCl. J Phys Chem. B 2001;105:6236-45.
32. Andrade LH, Vitta PBD, Utsunomiya RS, Crusius IH, Porto ALM, Comasseto JV. Bio-recycling of hexanes from laboratory waste mixtures of hexanes and ethyl acetate by ester biotransformation: a green alternative process. Applied Catalysis B Environmental. 2005;59:197-203.
33. Zancanaro O Jr. Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos. In: Manual de biossegurança. Barueri: Manole; 2002. p.121-83.
34. Teixeira SCG, Mathias L, Canela MC. Recuperação de sílica-gel utilizando processos oxidativos avançados: uma alternativa simples e de baixo custo. Química Nova. 2003;26:931-3.
35. Associação Brasileira de Engenharia Química. Manual para atendimento de emergências com produtos perigosos. São Paulo: ABEQ; 2002. 269p.
36. Chang JC, Levine SP, Simmons MSA. Laboratory exercise for compatibility testing of hazardous wastes in an environmental analysis course. J Chem Educ. 1986;63:640-3.
37. Foster BL. The chemical inventory management system in academia. Chem Health and Safety. 2005;12:21-5.
38. Gordon SA. Rastreamento de resíduos químicos gerados em instituições de ensino e pesquisa visando minimização de danos ambientais. [Dissertação]. Guarulhos, 1999. Universidade Guarulhos.
39. Lunn G, Sansone EB. Destruction of hazardous chemicals in the laboratory. 1. ed. New York: Wiley-Interscience; 1990.
40. Pitt MJ. Handbook of laboratory waste disposal. 1. ed. New York: Ellis Horwood; 1987.
41. White EH. Fundamentos de química para ciências biológicas. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher; 1988.

Sites consultados:

42. Available: http://www.orcbs.msu.edu/chemical/resources_links/chemical_compatibility/compatchart.pdf. Acesso em: 7/7/2010).

43. Available: http://www.coleparmer.com/techinfo/chemcomp.asp. Acesso em: 7/7/2010.

capítulo 6

Biossegurança no uso de radioisótopos

Célia Colli
Carlos Henrique de Mesquita

FUNDAMENTOS FÍSICOS

Para desenvolver os aspectos de biossegurança relacionados com o uso de radioisótopos vamos considerar o átomo com dimensão de 10^{-8} cm, constituído de um núcleo positivo (de 10^{-13} cm) e uma camada eletrônica. O núcleo do átomo é formado de prótons e nêutrons, sendo uma espécie nuclear identificada pelo seu número atômico (Z), ou número de prótons, pelo número de nêutrons N e sua massa pela soma de neutrons e prótons, ou número de massa (A). Assim, um nuclídio é representado como ${}^{A}_{Z}X$, onde X é o símbolo químico do elemento[1].

A unidade de massa utilizada para representar o átomo e as partículas subatômicas corresponde a 1/12 da massa do ^{12} C. Uma unidade de massa atômica (u.m.a.) é igual a $1{,}66 \times 10^{-12}$ g. As massas do próton e do nêutron são, nessa unidade: $m_p = 1{,}007277$ u.m.a.; $m_n = 1{,}008665$ u.m.a.

Partindo-se da equação $E = mc^2$, em que c corresponde à velocidade da luz (300.000 km/s) chega-se a que 1 u.m.a. = 931,1 MeV (milhões de elétrons-volt).

Recordando: a unidade de energia que vamos utilizar é o elétron-volt (eV). As relações de conversão entre eV e joule (J) são as seguintes:

$$1 \text{ eV} = 1{,}6 \times 10^{-19} \text{ J}$$
$$1 \text{ keV} = 1{,}6 \times 10^{-16} \text{ J}$$
$$1 \text{ MeV} = 1{,}6 \times 10^{-13} \text{ J}$$

Isótopos e radioisótopos

São chamados isótopos aqueles elementos que tem o mesmo número atômico. Como exemplo, temos:

alguns isótopos do iodo: ${}^{123}_{53}I$; ${}^{125}_{53}I$; ${}^{131}_{53}I$; ${}^{133}_{53}I$

isótopos do hidrogênio: ${}^{1}_{1}H$; ${}^{2}_{1}H$; ${}^{3}_{1}H$

Há 104 elementos químicos conhecidos, 300 isótopos estáveis e aproximadamente mil isótopos radioativos. Assim, a maioria dos elementos encontrados na natureza tem mais de um isótopo. Os isótopos de um elemento têm as mesmas propriedades químicas, pois possuem o mesmo número de elétrons na coroa eletrônica. Contudo, têm propriedades físicas e nucleares diferentes[1].

As forças que mantêm prótons e nêutrons ligados são de natureza diferente das gravitacionais e eletromagnéticas. Muito intensas e independentes da carga elétrica (são capazes de unir partículas de mesma carga como os prótons), essas forças atuam apenas dentro do núcleo.

Radioatividade é um fenômeno nuclear, originado da desintegração espontânea de núcleos atômicos[7]. A probabilidade por unidade de tempo de que um nuclídio se desintegre (emita partículas) depende somente do nuclídio e é independente do tempo. Esta probabilidade chama-se constante de decaimento (λ). A variação do numero de átomos radioativos com o tempo é exponencial:

$$N(t) = N_0 \, e^{-\lambda t} \qquad (1)$$

onde N é o número de átomos de uma amostra radioativa em qualquer tempo t, e N_0 o número inicial de átomos dessa amostra.

Portanto meia-vida, conceito tirado dessa equação, é o tempo decorrido para que a metade dos átomos de uma amostra radioativa se desintegrem. Ou:

$$\text{Quando } t = T_{1/2} \rightarrow N = \frac{N_o}{2}$$

substituindo em (1) t por $T_{1/2}$ e N por $N_o/2$, temos:

$$\frac{N_0}{2} = N_0 . \, e^{-\lambda T1/2} \qquad \text{ou} \qquad e^{\lambda T1/2} = 2$$

$$\text{e} \qquad T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0{,}693}{\lambda}$$

$$T_{1/2} = \frac{0{,}693}{\lambda} \qquad (2)$$

A constante de decaimento λ é característica de cada nuclídio e independe do tempo, ou seja, quanto maior a constante de desintegração (probabilidade de um átomo se desintegrar), menor sua meia-vida, e vice-versa. As meias-vidas dos elementos podem variar de 10^{-9} s a 10^{10} anos.

No organismo humano ou animal a probabilidade total de decaimento de um radioisótopo é a soma das probabilidades de decaimento biológico (pelo metabolismo) e físico (por desintegração radioativa)[1]. Assim:

$$\lambda \text{ efetiva} = \lambda \text{ física} + \lambda \text{ biológica}$$

$$\text{e lembrando que } \lambda = \frac{0{,}693}{T_{1/2}}$$

$$\frac{0{,}693}{T_{1/2}\,ef} = \frac{0{,}693}{T_{1/2}\,f} + \frac{0{,}693}{T_{1/2}\,b} \qquad \text{ou}$$

$$\frac{1}{T_{1/2}\,ef} = \frac{1}{T_{1/2}\,f} + \frac{1}{T_{1/2}\,b} \qquad (3)$$

e portanto,

$$T_{1/2}\,ef = \frac{T_{1/2}\,f \times T_{1/2}\,b}{T_{1/2}\,f + T_{1/2}\,b} \qquad (4)$$

A meia-vida efetiva inclui essas duas probabilidades de decaimento de um radioisótopo no organismo.

Unidade de medida da atividade radioativa

A atividade da fonte radioativa é expressa no SI, Sistema internacional de Medidas em unidades Becquerel (Bq). Um Bq representa uma desintegração (ou emissão) por segundo (dps). Até 1983 a unidade de atividade radioativa era o Curie (Ci) equivalente ao número de desintegrações de 1 g de ^{222}Ra.[2]

Como exercício podemos calcular a atividade radioativa de 1g de ^{222}Ra ($T_{1/2}$ 1620 a) segundo a equação:

$$A_1 = \frac{\lambda N = 0{,}693 \times 6{,}02 \times 10^{23}}{T_{1/2}} \times \frac{m}{A}$$

$$= \frac{0{,}693 \times 6{,}02 \times 10^{23} \times 1}{1620 \times 365 \times 24 \times 3600 \times 222} = 3{,}7 \times 10^{10} \text{ dps}$$

A_1 atividade radioativa
λ constante de desintegração (ou de decaimento)
$T_{1/2}$ meia-vida expressa em segundos
N número de átomos presentes na massa m
A número de massa do elemento radioativo
m = massa da amostra do elemento

Portanto, o Curie (Ci) corresponde a $3{,}7 \times 10^{10}$ dps ou $3{,}7 \times 10^{10}$ Bq

EMISSÕES RADIOATIVAS

As emissões dos núcleos radioativos podem ser de três tipos: partícula α, patícula β e radiação γ.[2]

A partícula α, constituída por 2 prótons e 2 nêutrons, tem carga 2^+ e massa igual ao núcleo do átomo de hélio, é representada como $^4_2\alpha$ ou $^4_2$He.

A partícula beta é um elétron criado no núcleo, no momento da emissão. Pode ter carga negativa ($^0_{-1}\beta$) ou positiva ($^0_{+1}\beta$). Quando o pósitron é emitido e encontra um elétron do meio, ocorre a reação de aniquilação. Há transformação de massa em energia e o aparecimento de duas radiações gama de mesma direção e sentidos opostos e de energia igual a 0,51 Mev, resultante da transformação da massa do elétron em repouso, na equação $E = mc^2$. Normalmente uma emissão de partícula beta é acompanhada de emissão de radiação gama.

A radiação γ, é de natureza eletromagnética e comprimento de onda geralmente menor do que o dos raios X. Sua emissão acompanha as das partículas alfa e beta.

ESQUEMAS DE DESINTEGRAÇÃO

A emissão de partículas pelos núcleos provoca uma modificação em suas características de número atômico (Z) e número de massa (A). Uma alteração no número de prótons de um núcleo é na realidade a transmutação de um elemento em outro. Como para as aplicações biológicas da radiação normalmente são utilizados emissores de beta e de gama, vamo nos ater a esses tipos de emissão.

Emissão de Partícula Alfa

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2}Y + {}^{4}_{2}\alpha$$

$$^{238}_{92}U \rightarrow {}^{234}_{90}T_h + {}^{4}_{2}\alpha$$

Emissão de Partícula Beta

Beta menos

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A}_{Z+1}Y + {}^{0}_{-1}\beta + \bar{\upsilon}$$

$$^{32}_{15}P \rightarrow {}^{32}_{16}S + {}^{0}_{-1}\beta + \bar{\upsilon}$$

$$^{131}_{52}I \rightarrow {}^{131}_{53}X + {}^{0}_{-1}\beta + \bar{\upsilon}$$

Beta mais (pósitron)

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A}_{Z-1}Y + {}^{0}_{+1}\beta + \bar{\upsilon}$$

$$^{29}_{15}P \rightarrow {}^{29}_{14}Si + {}^{0}_{+1}\beta + \bar{\upsilon}$$

Para manter o princípio de conservação de energia de início foi sugerida (e depois comprovada) a emissão do antineutrino (na emissão de beta) e do neutrino (na emissão de pósitrons).

Neutrino é a partícula com massa desprezível e sem carga que também tem um espectro de energia que vai de zero à energia máxima da beta. A soma de sua energia com a da energia da partícula beta corresponde à energia máxima que caracteriza o radionuclídio. No exemplo do P-32 (E max = 1,7 Mev), quando a partícula beta é emitida com 0,6 Mev, o antineutrino é emitido com 1,1 Mev de energia ou seja, a diferença (1,7 – 0,6) Mev.

O espectro de emissão beta é contínuo, sendo emitidas partículas com energia de zero a uma energia máxima, característica do núcleo. No caso do P-32, essa energia é de 1,7 Mev. Para cálculos de dose, utiliza-se a energia média da partícula que corresponde aproximadamente a 1/3 de sua energia máxima.

Em geral, o núcleo resultante das emissões de partículas alfa e beta emite radiação eletromagnética gama para atingir o estado fundamental de energia.

Na carta de nuclídios (tabela periódica estendida que apresenta os isótopos dos elementos químicos), os núcleos estáveis localizam-se na região em que o número de prótons (Z) é aproximadamente igual ao de nêutrons (N). Os nuclídios pesados possuem mais nêutrons do que prótons.

A desintegração beta, por outro lado, ocorre com nuclídios de relação N/Z >1. O nêutron transforma-se em um próton, um elétron é emitido junto com o antineutrino. A desintegração β^+ ocorre quando a relação N/Z <1. No momento da emissão um próton transforma-se em um nêutron e a partícula é emitida junto com o neutrino.

INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA

As radiações emitidas por um elemento radioativo em determinado meio interagem tanto com as camadas eletrônicas como com os núcleos dos átomos que compõem esse meio, em um processo probabilístico que depende do tipo de partícula, de sua energia e das características do meio. Dessa interação resulta a chamada absorção da radiação, ou seja, o resultado da transferência de energia da radiação para o meio. Esse mecanismo serve de base para a detecção de radiação e para as bases de proteção radiológica[1].

A partícula alfa pode produzir ionizações (retirada de elétrons da camada eletrônica) e excitação (levar o elétron a uma camada mais energética). Define-se como alcance da partícula alfa o espaço percorrido pela partícula até que pare, ou seja, que perca toda sua energia. Nesse instante transforma-se no átomo de hélio, ao incorporar elétrons do meio. Sua trajetória é retilínea e esse alcance é proporcional à sua energia As partículas alfa são barradas por uma folha de papel, dada sua grande probabilidade de interação com o meio.

A partícula beta interage por dois processos: ionização e radiação de freiamento. Neste último, a desaceleração brusca da partícula por ação do campo do núcleo de átomos pesados (como o chumbo) gera uma radiação eletromagnética. A perda de energia de beta por ionização ou freiamento depende de sua energia e do número atômico do meio e segue a relação:

$$\frac{\Delta E\ (\text{radiação})}{\Delta E\ (\text{ionização})} = \frac{E \times Z}{800} \qquad (5)$$

O processo de desaceleração envolve a carga nuclear, sendo portanto mais intenso quando o meio tem número atômico maior

Ex.: Pb (Z = 82) em comparação com o Al (Z = 13)

Considerando uma partícula beta com energia de 1Mev, pela relação (5) acima tem-se a distribuição da energia dissipada na interação beta por ionizações e radiação de freiamento como:

No chumbo

$$\frac{\Delta E(\text{radiação})}{\Delta E\ (\text{ionização})} = \frac{1 \times 82}{800} = 0{,}1$$

Ou seja:

$$\Delta E(\text{rad}) = 0{,}1\ \Delta E\ (\text{ion}) \qquad (6)$$

$$\Delta E(\text{rad}) = \Delta E\ (\text{ion}) = 1 \qquad (7)$$

$$1{,}01\ \ \Delta E\ (\text{ion}) = 1$$

$$\Delta E\ (\text{ion}) = \frac{1}{1{,}01} = 0{,}91 \qquad (8)$$

$$\Delta E\ (\text{rad}) = 1 - 0{,}91 = 0{,}09$$

Ou seja, 9% da energia da partícula beta é dissipada em radiação de freiamento e 91% em ionizações.

O mesmo cálculo para o alumínio (Z = 13) leva à seguinte distribuição:

$$\frac{E\ (\text{rad})}{E(\text{ion})} = \frac{1 \times 13}{800} = 0{,}02$$

$$E(\text{rad}) + E(\text{ion}) = 1$$

$$0{,}02\ E(\text{ion}) + E(\text{ion}) = 1$$

$$1{,}02\ E(\text{ion}) = 1$$

$$E(\text{ion}) = \frac{1}{1{,}02} = 0{,}98$$

$$E\ (\text{rad}) = 1\text{-}0{,}98 = 0{,}02 \qquad (9)$$

Assim, no caso da interação de uma partícula beta de 1Mev no alumínio, 82,6% da energia será dissipada em ionizações e 17,4% em radiação de freiamento, indicando que no chumbo a perda de energia por radiação dessas partículas beta de 1 Mev é 40 vezes mais intensa do que no alumínio. É por essa razão que não se podem usar anteparos de chumbo para barrar partículas beta de alta energia (como é o caso das partículas beta emitidas, por exemplo, pelo ^{32}P, com E-1,7 Mev), uma vez que da interação com o anteparo é gerada radiação eletromagnética.

Quando a energia da partícula beta é baixa (por exemplo, de 100 keV) e em casos de interação com material de baixo número atômico (por exemplo, água com Z = 7 aproximadamente), menos de 0,1% da energia do elétron primário é convertida em radiação e 99,9% em calor.

Partículas alfa e beta, têm, portanto, alcance definido que depende do meio, do tipo e da energia das partículas. Alcance é um parâmetro importante quando se pensa no uso de radioisótopos e em proteção radiológica. Ele pode ser expresso em mg/cm^2, unidade que o torna independente do meio. Pode-se, então, dizer que as partículas beta do ^{32}P têm alcance de 800 mg/cm^2; podendo ter seu alcance linear em qualquer material uma vez que se disponha de sua densidade. Exemplo:

Alcance de partícula beta do ^{32}P		
Material	Densidade g/cm^3	Alcance linear (cm)
Pb	11,35	0,07
Al	2,7	0,3
tecido mole	1,1	0,7
Ar	0,0129	62

A radiação gama também pode interagir tanto com elétrons da coroa eletrônica do átomo como com o próprio núcleo. O efeito fotoelétrico e o efeito Compton são as interações que ocorrem com elétrons orbitais.

Efeito fotoelétrico

Neste tipo de interação, um fóton (hn) cede toda sua energia a um elétron da camada K, removendo-o. Esse elétron terá uma energia cinética igual a (hn- Ek) onde Ek é a energia de ligação da camada K. Outro elétron preencherá a camada vazia e a diferença de energia será emitida como radiação característica.

Efeito Compton

Envolve elétrons livres e independe do número atômico do meio. O fóton (hn) cede parte de sua energia para retirar o elétron e continua com energia igual à diferença entre a energia do fóton primário e a energia de ligação do elétron. A fração espalhada é grande para fótons de baixa energia e muito pequena para fótons de alta energia. No tecido mole, na faixa de 100keV a 10 Mev a interação por efeito Compton é a mais importante.

Produção de pares

Quando um fóton com energia maior do que 1,02 Mev é submetido ao campo do núcleo, pode ocorrer a

interação por produção de pares. O fóton desaparece e originam-se dois elétrons, um positivo e um negativo. Há, portanto, a transformação de energia em massa. Como o equivalente da massa do elétron é uma energia de 0,511 Mev e são formadas duas partículas, para que esse fenômeno ocorra a energia mínima do fóton deverá ser 1,02 Mev. A partir dessa energia a diferença é, como energia cinética, distribuída pelas duas partículas geradas. Acima de 1,02 Mev a probabilidade de ocorrência desse efeito aumenta ligeiramente com o aumento da energia do fóton.

CÁLCULO DE BLINDAGEM

Conhecendo-se as formas de interação da radiação com a matéria, podem-se resolver algumas situações de cálculo de blindagem. Na Figura 1 está representado um feixe de fótons de intensidade I_0 que ao interagir com um anteparo tem sua intensidade reduzida para I.

A atenuação do feixe é um processo exponencial em função da espessura da blindagem:

I = Intensidade do feixe emergente (em unidades de dose; em número de fótons)
I_0 = Intensidade do feixe incidente (em unidades de dose; em número de fótons)
μ_L = coeficiente de atenuação linear (cm^{-1}). É uma constante que é função da radiação incidente e do material da blindagem. $\mu_L = \Sigma$ efeitos fotoelétrico, Compton, produção de pares.
X = espessura da blindagem (10)

Camada semirredutora (CSR; $X_{1/2}$)

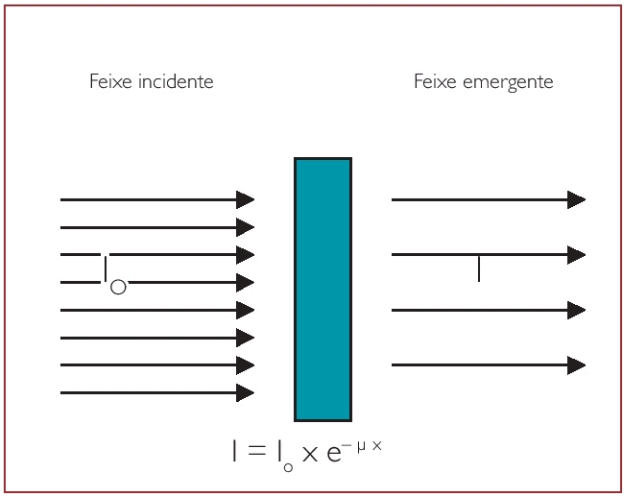


Figura 1. Feixes incidente e emergente. Absorção da radiação pela matéria.

Partindo da equação exponencial, $I=I_o.e^{-\mu . x}$ tira-se o conceito de camada semirredutora como a espessura que reduz a intensidade do feixe à metade.

Ou seja, quando $I = \frac{I_o}{2} \rightarrow X = X_{1/2}$

$$\frac{I_o}{2} = \frac{I_o}{e^{\mu \times X1/2}}$$

$$2 = e^{\mu \times X1/2}$$

$$\ln^2 = \mu \times X_{1/2} \ln e$$

$$0{,}693 = \mu X_{1/2}$$

$$X_{1/2} = \frac{0{,}693}{\mu} \qquad (11)$$

Exemplo:

Para determinar a espessura de Pb necessária para reduzir a 1/3 a atividade de uma fonte de ^{131}I ($E\gamma$ = 0,36 Mev), procura-se o coeficiente de absorção linear (μ) do chumbo para uma radiação γ com essa energia: $\mu_{Pb} = 1{,}73\ cm^{-1}$

$$I = \frac{I_o}{3} \rightarrow \frac{I_o}{3} = \frac{I_o}{e^{\mu x}}$$

$$3 = e^{1{,}73x} \rightarrow \ln(3) = 1{,}73x\ \Phi\ \ln(e) \rightarrow 1{,}099 = 1{,}73x$$

Resp: X = 0,64 cm

MOLÉCULAS MARCADAS E RADIOFÁRMACOS

Molécula marcada é aquela em que um ou mais átomos são substituídos por átomos radioativos de maneira que podem ser distinguidas das demais, não marcadas. Radiofármaco é a molécula marcada utilizada in vivo para diagnósticos e tratamentos em medicina nuclear, sendo portanto sujeita aos controles necessários a um fármaco[12]. Em geral, o símbolo do isótopo é colocado entre chaves antes do nome químico e, quando necessário, é indicada sua posição na molécula. Exemplo: [2 – ^{14}C] timidina.

Normalmente a atividade radioativa de um composto marcado ou de um radiofármaco é expressa em unidades de atividade (Bq) por unidade de massa (g), chamada atividade específica, ou por unidade de volume (L), chamada concentração radioativa.

O tipo de molécula e seu uso definem o radionuclídio utilizado para sua marcação. É levada em conta a diferença de massa que ocorre na molécula ao se introduzir um átomo radioativo nela. O tipo e a energia de emissão são também importantes. Quando se pensa na utilização de um radioisótopo para uso *in vitro* procura-se um com $T_{1/2}$ longa e que não tenha energia muito alta para não levar a exposições desnecessárias. Exemplos de isótopos com essas características são o C-14 (beta menos, $T_{1/2}$ 5700a) e H–3 (beta menos, $T_{1/2}$ 12 a).

Para o mapeamento de um órgão procuram-se elementos de $T_{1/2}$ curta e emissores de radiação gama com energia suficiente para que seja detectada fora do organismo. Exemplos são os elementos de $T_{1/2}$ curta ($T_{1/2}$ horas) e ultracurta ($T_{1/2}$ 1-5 min) como: ^{99m}Tc ($T_{1/2}$ = 6 h); ^{117}In ($T_{1/2}$ = 1,94 h); ^{11}C ($T_{1/2}$ = 20,5 min); ^{123}I ($T_{1/2}$ = 13,1 h) ^{82}Rb ($T_{1/2}$ = 80 s); ^{137m} Ba ($T_{1/2}$ = 153 s) que são usados para estudos metabólicos e funcionais.

PROTEÇÃO RADIOLÓGICA E DOSIMETRIA

O termo proteção radiológica refere-se à proteção contra as radiações, a higiene, a segurança e o controle no manuseio de materiais radioativos[3,4,5]. Visa não somente a proteção adequada às pessoas que trabalham com radiação como também à população em geral, que de alguma forma pode estar exposta. Sua finalidade é proteger contra os perigos potenciais dessa exposição e possibilitar o usufruto de seus benefícios.

Até a descoberta dos raios X e da radioatividade a exposição do ser humano à radiação ionizante limitou-se, quase que exclusivamente, às fontes naturais e à radiação cósmica, que constituem a chamada radiação natural de fundo, em nível considerado muito baixo[2]. Os primeiros profissionais que se preocuparam com as normas de proteção radiológica foram os radiologistas. A primeira unidade de dose de radiação foi denominada Roentgen (R) e definida como a quantidade de raios X que pode provocar certa ionização num volume bem definido de ar nas condições normais de temperatura e pressão (CNTPs). Paralelamente veio a recomendação de que a exposição de um profissional se mantivesse num nível de 1R/d.

A evolução dos estudos dos efeitos biológicos da radiação (EBRs) mostrou que os níveis máximos de 1R/d eram muito altos e que existiam outros fatores que alteravam a relação dose × efeito: tipo de radiação, volume irradiado, e outros[6,7].

A unidade Roentgen (R), sendo definida apenas para o ar, não servia de parâmetro para inferir os efeitos biológicos advindos de determinada dose de exposição.

Em 1953, foi então introduzida a unidade rad (*radiation absorbed dose*) equivalente à absorção de 100 erg de energia por grama de material irradiado, medindo, portanto, a dose absorvida pelo tecido e abrangendo todos os tipos de radiação. As unidades Roentgen e rad consideram respectivamente a energia absorvida no ar e no tecido, mas não dão a dimensão dos danos biológicos produzidos.

Foi necessária, a introdução da unidade rem (*Roentgen equivalent in man*) que além de considerar a dose absorvida, leva em conta fatores como o tipo e a energia da radiação e sua distribuição em diferentes tecidos para que os possíveis danos biológicos possam ser inferidos.

O conceito de fator de qualidade "Q" foi introduzido, e assim o rem é igual à dose em rad multiplicado pelo Q. Para a radiação eletromagnética esse fator é igual a 1 e para a partícula alfa é igual a 10. Se tivermos a mesma dose em rad de um emissor alfa e de um emissor gama, teremos doses em rem 10 vezes maiores no caso de exposição à partícula alfa.

Desde 1983 as unidades de dose foram substituídas. Assim o gray (Gy) substituiu o rad como unidade de dose absorvida:

$$1\ Gy = 1\ J/kg = 100\ rad$$

o Sievert (Sv) substituiu o rem como unidade de dose equivalente:

$$1\ Sv = 100\ rem$$

e o coulomb/kg (c/kg) substituiu o Roentgen (R) como unidade de dose de exposição:

$$1\ C/kg = 100\ R$$

Em 1950, as recomendações passaram a especificar o limite de dose de 1 rem/sem, e atualmente de 0,1 rem/sem ou 1 mSv/sem.

Em 1958, a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP) estabeleceu normas que permitiram a avaliação da dose acumulada durante toda uma vida profissional[8].

Para a radiação externa, a dose máxima que um profissional pode acumular até a idade de N anos é dada por:

$$D = 5(N\text{-}18)\ rem$$
$$D = 50(N\text{-}18)\ m\ Sv$$

A partir dessa expressão e considerando-se a exposição do corpo todo, obtém-se a dose máxima permitida por ano que é de 50 mSv (5 rem). Considerando-se 50

semanas em um ano, a dose máxima por semana é de 0,1 rem ou 1 mSv; para uma semana de 40 horas é de 2,5 mrem/h ou 25 μSv/h.

Para evitar dúvidas quanto a uma possível redistribuição de dose no tempo, a ICRP estabeleceu como máximo uma dose de (3 rem) 30 mSv em três meses consecutivos, mantendo-se o limite de (5 rem/a) 50 mSv/a.

Portanto, quando a exposição for apenas das extremidades (pés e mãos) a dose máxima permitida passa a ser obtida pela equação:

$$D = 750\ (N\text{-}18)\ mSv\ [ou\ D = 75\ (N\text{-}18)\ rem]$$

Além da exposição interna à radiação, do advento dos reatores e da utilização de radioisótopos para as mais diversas finalidades, houve o aumento do risco de ingestão de materiais radioativos resultantes da contaminação ambiental[9]. O cuidado com esse aspecto traduz-se em recomendações para as máximas concentrações permissíveis (CPM) de alguns radioisótopos na água, no ar e nos alimentos[10]. Essas concentrações máximas levam em conta não somente as propriedades físicas dos radioisótopos como sua toxicidade e seu comportamento biológico.

Concentrações máximas permissíveis de alguns radioisótopos e no ar.

	Água (Bq/mL)	Ar (Bq/cm³)
^{131}I	1,11	$1,11 \times 10^{-4}$
^{14}C	111	$3,7 \times 10^{-2}$
^{32}P	7,4	$3,7 \times 10^{-3}$
^{35}S	185	$3,7 \times 10^{-2}$

As recomendações não levam em conta as exposições provenientes da radiação natural nem as resultantes de exames médicos (por exemplo, radiografias). A exposição devida à radiação de fundo é aproximadamente constante (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de exposição anual devida à radiação de fundo.

Externa	mSv/a
Rad. cósmica	0,28
Rad. gama ambiental	0,43
Rn no ar ($8,1 \times 10^{-15}$ Bq/cm³)	0,01
Interna	
K-40	0,2
C-14	0,01
Produtos de decaimento do Rn	0,02
TOTAL	0,95

No caso de contaminação superficial, como a contaminação da pele, recomenda-se sua eliminação enquanto for transferível e ocasionar níveis de radiação externa acima dos recomendados.

Há três parâmetros fundamentais quando se pensa em proteção radiológica (CNEN NE – 3.01):

- Adistância da fonte radioativa ao operador;
- tempo de exposição do operador à radiação;
- blindagem interposta entre a fonte e o operador.

A proteção radiológica abrange um campo muito vasto que inclui desde, por exemplo, o estudo do local adequado de construir uma usina nuclear até a disposição final de resíduos radioativos (CNEN NE 6.02).

Trabalhos que envolvam níveis altos de atividade radioativa (da ordem de 10^4 Bq), como a produção de radiofármacos para uso em Medicina Nuclear ou a marcação de moléculas para radioimunoensaios, devem ser desenvolvidos em capelas especialmente destinadas para esse fim com as seguintes características:

- Blindagem – adequada para o radioisótopo que está sendo manuseado. Deve manter a exposição do operador abaixo de 1 mSv/semana
- Exaustão – a capela deve ter compressão menor do que a do ambiente do laboratório. O ar exaurido deve passar por filtros adequados e ser monitorado antes de ser liberado no meio ambiente.
- Manuseio – com ferramentas adequadas que permitam o trabalho a distância e não prejudiquem sua precisão.
- Resíduo – precisam ser retirados sem que entrem em contato com o meio ambiente.

No que se refere ao laboratório, deve-se fazer a monitoração para a radiação externa que indique qualquer alteração acima dos níveis permissíveis[11]. Um monitor contínuo têm de medir a atividade específica do ar e um alarme irá indicar quando for atingida a concentração máxima do radioisótopo mais perigoso manuseado no laboratório.

Os locais passíveis de contaminação deverão ser avaliados periodicamente a partir de amostras obtidas de esfregaços.

DOSIMETRIA

A facilidade em medir a radioatividade com precisão, e a sensibilidade que permite a avaliação de sua distribuição nos vários compartimentos orgânicos fazem dos traçadores radioativos um potente instrumento de investigação científica[12-14]. Os radioisótopos são ampla-

mente utilizados em medicina nuclear, em estudos de bioquímica, nutrição, fisiologia e de biologia em geral.

Entretanto, o uso dos radioisótopos exige algumas precauções que têm de ser consideradas quanto à sua manipulação e a seu armazenamento[15,16]. As partículas e radiações dissipam sua energia ao interagirem com moléculas da estrutura celular e provocam danos que podem comprometer a saúde de quem se expõe a elas. Porém, o conhecimento desses riscos permite o seu uso seguro.

Dados provenientes da radioterapia, dos acidentes nucleares ou da contaminação devido à ocupação profissional mostram que as radiações produzem alterações gênicas e cromossômicas que aumentam a taxa de mutações de células dos indivíduos das gerações subsequentes[7,17]. Por outro lado, as mutações induzidas pelas radiações ionizantes podem também ocorrer em células somáticas e essas não são transmitidas à descendência dos indivíduos irradiados.

A radiação ionizante pode provocar malformações congênitas, esterilidade, reduzir a fertilidade, provocar câncer, leucemia, catarata; acelerar o envelhecimento e causar a morte. No entanto, como qualquer outro agente a que o ser humano está exposto, os riscos da exposição à radiação devem ser dimensionados. Riscos genéticos e somáticos associados às radiações ionizantes mostram que os efeitos produzidos dependem de fatores que serão discutidos a seguir.

Dose equivalente – associação de parâmetros físicos e biológicos

O efeito da taxa de dose – espaçamento da irradiação no tempo

doses de mesma intensidade podem produzir efeitos biológicos diferentes se a exposição é crônica ou aguda. As células germinativas quando irradiadas com doses crônicas (espaçadas ao longo do tempo) produzem comparativamente menor taxa de mutação do que quando submetidas à mesma dose em exposição aguda.

Qualidade da radiação

A intensidade dos efeitos biológicos das radiações ionizantes depende do tipo de radiação (se particulada ou eletromagnética), de sua energia, de sua massa ou de sua carga e, principalmente, do rendimento de transferência linear da energia por milímetro de percurso (LET) no tecido orgânico.

Radiações eletromagnéticas como os raios X e os raios γ são pouco eficientes para transferir sua energia para o tecido, sendo por isso menos mutagênicos que a partícula α. Esta mostra alta eficiência na transferência da energia para os compostos orgânicos.

Tabela 2. Valores do fator de qualidade Q da radiação, para a água, em função da transferência linear de energia (LET).

LET, na água (keV/μm)			Q		
< 3,5			1		
3,5	a	7	1	a	2
7	a	23	2	a	5
23	a	53	5	a	10
53	a	175	10	a	20

Tabela 3. Valores do fator de qualidade Q sugerida para ser utilizados pela ICRP*.

Tipo de Radiação	Fator de qualidade Q ICRP no 26
Raios γ e X	1
Elétrons e partículas β com energia ≥ 30 keV	1
Elétrons e partículas β com energia < 30 keV	1
Partículas β do trício (3H)	
Nêutrons	
Nêutrons térmicos	2,3
Nêutrons rápidos e prótons	10
Prótons e íons pesados	
Íons pesados	20
Partículas α	20

* ICRP – International Comission on Radiological Protection (ICRP, 1977).

O fator de qualidade Q para cada tipo de radiação em função da intensidade do LET é mostrado na Tabela 2. Quando o espectro de energia é complexo ou não se conhecem as características do LET da radiação, os técnicos da ICRP[16] recomendam utilizar o valor de Q mostrado na Tabela 3.

Em virtude das dificuldades de avaliar o LET das radiações, em geral utilizam-se diretamente os valores de Q contidos na Tabela 3. Praticamente todos os radioisótopos utilizados nos experimentos da Medicina Nuclear e nos estudos biológicos são emissores de radiação beta ou gama e assim o valor de Q = 1 com exceção do ^{3}H (trício).

EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO

Radiossensibilidade das células

Os efeitos das radiações sobre um organismo dependem tanto do tipo das células irradiadas, como também do estágio do desenvolvimento celular[7,18]. Há células mais sensíveis às radiações do que outras. Células com

alta capacidade de replicação são mais radiossensíveis. Os espermatozoides, quando irradiados com a mesma dose fornecida a espermatogônias e oócitos, apresentam maior capacidade de reparação do material genético danificado. Em contrapartida, as espermatogônias têm capacidade intermediária e os espermatozoides praticamente não conseguem reparar os danos produzidos pelas partículas ionizantes.

As diferenças de radiossensibilidade entre células distintas seguem a lei de Bergonie e Tribondeau, a qual prevê que: a radiossensibilidade das células é diretamente proporcional à sua capacidade de reprodução e inversamente proporcional ao seu grau de especialização. Genericamente pode-se prever que todos os fatores que contribuem para aumentar a velocidade das reações químicas no interior das células também irão contribuir para aumentar a radiossensibilidade celular. Por exemplo, o calor, o pH, a concentração de reagentes específicos (O_2). Esquematicamente, a radiossensibilidade celular poderá ser representada por:

$$\text{Radiossensibilidade } \alpha = \frac{\text{Capacidade de reprodução} \cdot f(°C, pH, [O_2],...)}{\text{Especialização}}$$

onde f(°C, pH, $[O_2]$,...) é uma função dos componentes que contribuem no aumento das reações químicas no interior das células.

A capacidade diferenciada de as radiações transferirem sua energia – O LET

Há um esforço em relacionar o efeito biológico das radiações com parâmetros físicos e biológicos. Entretanto, estes são muito complexos para que seus parâmetros participem de uma fórmula matemática que seja simples e capaz de prever os efeitos biológicos da deposição da energia no tecido.

Os diferentes tipos de radiação (α, β, γ, X) durante seu trajeto no tecido produzem ions e excitações nos orbitais eletrônicos e que são responsáveis pela geração de danos no tecido. A quantidade de íons por milímetro percorrido gerados pela radiação é uma função complexa em relação a cada tipo de radiação e ao nível de energia E(eV). Para relacionar a quantidade de íons produzidos por milímetros percorridos pela radiação, utiliza-se o parâmetro:

$$\text{LET}^1 \propto \text{Nº íons/mm} = -dE/dx$$

onde dE/dx é a taxa da perda de energia por espaço percorrido (milímetros). Maior detalhamento da expressão matemática do LET foge ao escopo deste texto, encontrando-se nos textos de Física que tratam da interação da radiação com a matéria. Entretanto, para uma adequada compreensão dos princípios do cálculo de dose interna é suficiente saber que:

$$\text{LET}^1 \text{ para partículas } \alpha > \text{LET para partículas } \beta > \text{LET para fótons } \gamma \text{ ou X}$$

ou seja, para as radiações α, β, γ e X, com níveis semelhantes de energia, as partículas α produzem mais ionizações por milímetro do que as partículas β e finalmente as radiações eletromagnéticas γ e X são relativamente menos ionizantes.

Interação da radiação nos tecidos e a produção de radicais livres

A ação deletéria da radiação sobre as células ocorre predominantemente por processos indiretos (Butler et al., 1984), ou seja, não é o impacto direto da radiação que danifica a célula mas os produtos tóxicos gerados secundariamente no seu interior. Sendo a água o principal constituinte do corpo humano e da célula, correspondendo a cerca de 3/4 da massa corpórea, é nesse compartimento que ocorre a maior quantidade das interações primárias da radiação[19]. Quando a radiação interage com moléculas da água, desencadeia-se uma série de fenômenos físico-químicos que geram os radicais livres ionizados e energeticamente excitados (spins elevados a níveis singletos e tripletos), os quais produzem os danos celulares irreparáveis.

A radiação interage inicialmente por processos físicos com os átomos dos tecidos orgânicos e na sequência ocorre a transferência da energia da radiação para os constituintes do corpo. A Tabela 4 ilustra as principais ocorrências dos fenômenos de interação, sua escala de tempo de ação e as possíveis ações para minimizar os efeitos deletérios produzidos.

Dose equivalente e sua fórmula de cálculo – O Sievert (Sv)

Considerando que os diferentes tipos de radiação[2] possuem maior ou menor potencial para gerar os radicais livres em função do seu LET(eV/mm)[3], este parâmetro deve estar presente, de algum modo, na fórmula para expressar o efeito deletério das radiações. Nesse

[1] LET sinonímia de transferência linear de energia, termo originado da abreviação inglesa Linear Energy Transference. Será mantido no presente texto a abreviação de origem inglesa por se tratar de um jargão.

[2] Radiações α, β, γ, nêutrons, prótons dentre outras.

[3] Transferência linear de energia é a relação entre a energia transferida ao tecido a cada milímetro, simbolicamente: LET = -dE(eV)/dx(mm).

Tabela 4. **Mecanismo de ação das radiações.**

Tempo	Fenômeno	Evento
10^{-16} a 10^{-12} s	Físico	Absorção de energia
10^{-8} a 10^{-4} s	Físico-químico	Degradação da energia
10^{-4} s a várias horas	Químico	Direto / Indireto; H_2O radicais; Alterações químicas
Minutos – horas	Nível celulas (Metabolismo)	Metabólicas (DNA); Defeitos genéticos; Moléculas das células
		Alterações de funções da reprodução; Morte Integase; Morte
1 Horas – Dias	Organismo	Síndromes clínicas
Dias – Meses …..		Recuperação; Danos Permanentes; Morte

sentido foi definido matematicamente o conceito de dose equivalente "H" por:

$$H(Sv) = D(Gy) \cdot Q \cdot N \qquad (12)$$

onde Q = f(LET) é um fator implícito do LET da radiação e N = f(t, idade, sexo,...) outro fator utilizado na fórmula para representar todos os demais parâmetros biológicos capazes de influenciar o efeito da dose. O valor de N é função da idade, do sexo, da distribuição do tempo "t" de exposição e das características da irradiação (dose crônica ou aguda). Sendo esses parâmetros de avaliação muito complexos, no estágio atual de conhecimento, N é adotado indistintamente como sendo igual à unidade. Pretende-se que a dose equivalente H seja uma grandeza híbrida, constituída por fatores físicos e biológicos. Até o momento, ela é ainda calculada essencialmente por parâmetros físicos pois os dois primeiros componentes da fórmula, D (joules/kg) e Q = f(LET), são fatores puramente físicos. O fator predominante correlacionado com os efeitos deletérios da radiação continua sendo a quantidade de energia E (joules) depositada na massa m (kg) do tecido.

A unidade de dose equivalente no Sistema Internacional de medidas é o Sievert ou abreviadamente Sv, que substituiu o rem. Para a radiação γ e X e praticamente todas as radiações β o fator Q é igual à unidade e assim a dose absorvida D (Gy) e a dose equivalente H (Sv) são numericamente idênticas.

Correlação entre a dose equivalente e a incidência de câncer

É costume dividir a curva de dose/resposta para incidência de câncer em três segmentos correspondentes a níveis de dose de radiação baixos, médios e altos. Para doses com intensidade média a curva é linear, enquanto para doses elevadas tem comportamento quadrático ou exponencial. Esses dois tipos de resposta são explicados pela teoria do alvo. Pressupõe-se que o interior das células contenha regiões estruturais que representam "alvos" que, ao serem atingidos, produzem mutações ou morte celular. Numa população de alvos (ou de estruturas) basta um golpe (hit) de radiação para danificar um deles. Com doses muito elevadas é provável que ocorram repetidos golpes no mesmo alvo e assim a frequência dos efeitos não aumenta pois o "alvo" já estaria destruído no primeiro golpe (hit), daí a resposta exponencial expressa pela equação:

$$\text{Efeito} = a_0 - a_1 \bullet e^{-\lambda * D} \qquad (13)$$

Alternativamente, se existirem alvos que necessitam de dois hits simultâneos para serem sensibilizados então

com o aumento da dose D cresce também a probabilidade de sucesso da ocorrência dos dois hits e como consequência a curva apresentará um perfil quadrático (função matemática dependente da dose D elevada ao quadrado), ou seja:

$$\text{Efeito} = a_0 + a_1 \cdot D + a_2 \cdot D^2 \qquad (14)$$

A estimativa do risco de câncer para baixos níveis de radiação é polêmica (região ampliada na Figura 2) e calculada por extrapolação dos dados obtidos de pacientes submetidos aos radiodiagnósticos na medicina nuclear, na radiologia e de indivíduos que sofreram algum acidente envolvendo o uso de radiação, todos submetidos a níveis médios ou altos de doses. A teoria mais aceita para estimar a probabilidade de risco de câncer para níveis baixos de radiação utiliza o modelo linear (curva 1 da Figura 2).

Projeções de risco de câncer para doses abaixo de 1 Sv não são exatas e definitivas devido aos poucos dados epidemiológicos disponíveis. Em comparação com outros agentes cancerígenos, a radiação ionizante é responsável por relativamente menor número de casos e assim seu efeito é mascarado.

A American Cancer Society estima que 25% da população, entre 20 e 65 anos, desenvolva câncer no transcorrer de suas vidas[20]. As prováveis causas são o tabagismo, os aditivos e contaminantes presentes nos alimentos, o alcoolismo, as drogas, os poluentes do ar e também a radiação de fundo[21]. Portanto, num grupo de dez mil pessoas provavelmente 2.500 (25%) serão acometidas de câncer. Se dez mil pessoas se submeterem a uma dose ocupacional de 0,01 Sv, espera-se que haja um aumento de três indivíduos naquela estatística, isto é, a incidência de 2.500/10.000 passa a ser 2.503/10.000 (25,03%).

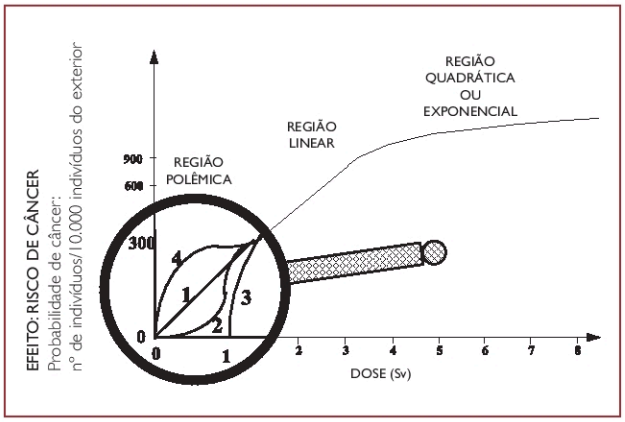


Figura 2. Modelo de Curvas de Dose *versus* Efeito (risco de câncer) e suas regiões. Esta figura é uma interpretação do Appendix 8.29 do *U.S. Nuclear Regulatory Commission Regulatory Guide* (Julho de 1981).

Adotando-se o modelo linear de dose/resposta, se a dose ocupacional for aumentada para 0,1 Sv a frequência passará a ser provavelmente de 2.530/10.000 (25,3%) e na mesma linha de raciocínio para dose ocupacional de 1 Sv a expectativa será de 28% contra os 25% da ocorrência considerada natural.

Em função de maior disponibilidade de dados epidemiológicos, muitos profissionais acreditam existirem riscos de desenvolvimento de câncer mesmo para níveis baixos de radiação e usam em suas projeções as curvas 1 ou 2 mostradas na Figura 2[22]. Entretanto, fundamentados na pequena incidência de câncer para níveis baixos de doses, os mais liberais sugerem a existência de um limiar de dose capaz de disparar os efeitos deletérios da radiação (curva 3 na Figura 2). Os mais conservadores pressupõem que o risco das radiações ocorra mesmo para níveis muito baixos, só deixando de ser expressivo quando próximo dos valores ambientais (curva 4 na Figura 2)[23].

RELAÇÃO RISCO/BENEFÍCIO NO USO DE MATERIAIS RADIOATIVOS

Os organismos internacionais como a ICRP padronizaram o limite máximo permitido de radiação ionizante para trabalhadores por um ano em 50 mSv, para ingestão ou inalação do material radioativo[24,25]. Essa estimativa de dose baseia-se no homem-padrão, com características fisiológicas e anatômicas definidas na publicação da ICRP nº 23[24] que leva em conta a possibilidade de a radiação produzir câncer e doenças hereditárias. Doses superiores a 4 Sv, conhecidas como doses letais 50% (DL50), são fatais para 50% de uma população exposta. Doses acima de 7 Sv são praticamente fatais.

Dose equivalente comprometida

Os limites da dose equivalente para trabalhadores expostos à radiação ocupacional foram estabelecidos pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), e no Brasil pela Comissão de Energia Nuclear (CNEN)[11] (CNEN NE-3.01). A Tabela 5 mostra os limites máximos de exposição para trabalhadores, com base na estimativa da Dose Equivalente Comprometida definida pela equação:

$$H_{E50} = \frac{\int D_{50}.Q.N.dm}{\int dm}$$

Tabela 5. Limites de doses recomendadas pela ICRP*

Dose equivalente efetiva H_E	Para trabalhador	Para público
	100 mSv em 5 anos	1 mSv por ano
	Máximo 50 mSv por ano	
Dose equivalente anual		
Cristalino dos olhos	150 mSv	15 mSv
Pele – 100 cm^2	500 mSv	50 mSv
Mãos	500 mSv	50 mSv
Dose equivalente média no feto	5 mSv após o diagnóstico	

*ICRP – International Comission on Radiological Protection (ICRP, 1979).

onde D_{50} é a dose total absorvida por um período de 50 anos após a incorporação do radionuclídio no corpo e nos órgãos individualmente, e dm um elemento infinitesimal da massa irradiada.

Para ilustrar esses conceitos analisaremos o seguinte caso:

Um pesquisador com 70 kg dos quais, 63 kg de tecido mole, contaminou-se com 6×10^9 Bq (I_o = incorporação inicial) de trício (^3H). Sabe-se que a meia-vida biológica do trício no corpo humano é de cerca de dez dias ($\lambda_b = 0{,}693/10\ d^{-1}$), a meia-vida física de 4,475 dias ($\lambda_f = 0{,}693/4475$) e a energia média das partículas β do trício é de 6 keV (E_{med}). Supondo que o material radioativo se distribuiu uniformemente por todo o tecido mole, calcular a dose absorvida e a dose equivalente neste acidente.

A estratégia de cálculo deve seguir as seguintes etapas:

1. Transformar a atividade incorporada I_o na mesma unidade de tempo da meia-vida ($T_{1/2}$) fornecida.
2. Calcular o número de transformações ocorridas no corpo ao longo do tempo, usando a expressão:

$$U\ (\text{desintegrações}) = I_o / \mu_{efetivo} \qquad (16)$$

onde $\mu_{cf} = 0{,}693/T_{1/2}$ (efetivo).

3. Transformar a E_{med} de eV em joules usando as relações: 1 eV = $1{,}6 \times 10^{-19}$ joules; 1 keV = $1{,}6 \times 10^{-16}$ joules e 1 MeV = $1{,}6 \times 10^{-13}$ joules.
4. Calcular a energia total das N desintegrações usando a expressão:

$$E_{total} = E_{med}\ (\text{Joules}) \times U(\text{desintegrações}) \qquad (17)$$

5. Calcular a dose absorvida usando a definição: Dose (Gy) = E_{total} /m onde m é a massa do tecido irradiado em kg.
6. Calcular a dose equivalente multiplicando a dose absorvida pelos fatores Q (qualidade) e N (modificador). Dose (Sv) = Dose (Gy) × Q × N, onde Q é fornecido na tabela 2 e N é geralmente igual a um.

De acordo com esse esquema, a estimativa de dose desse exemplo será:

1º Passo I_o(desint/dia) = 6×10^9 (dps) × 86400 = $5{,}18 \times 10^{14}$ desint/dia.

2º Passo Calcular o número total de desintegrações ocorridas:
U(desintegrações) = $5{,}18 \times 10^{14}/0{,}0693 = 7{,}48 \times 10^{15}$ desintegrações.

3º Passo Transformar a energia média da partícula β do trício de kev para joule equivale a 6 (Kev)× $\frac{1{,}6 \times 10^{-16}\ (\text{joules})}{\text{Kev}} = 9{,}6 \times 10^{-16}$ joules.

1 kev = $1{,}6 \times 10^{-16}$J

6 kev = $6 \times 1{,}6 \times 10^{-16}$ J = $9{,}6 \times 10^{-16}$ J.

4º Passo A energia total dissipada ao longo do tempo será então:

$$E_{total} = 7{,}48 \times 10^{15} \times 9{,}6 \times 10^{-16} = 7{,}18 \text{ joules.}$$

5º Passo A dose absorvida: dose (Gy) = 7,18J/63kg = 0,11Gy.

6º Passo Da Tabela 3 tem-se para partículas β Q = 1 e assumindo N = 1:

$$\text{Dose (Sv)} = 0{,}11\ \text{Gy} \times 1 \times 1 = 0{,}11\ \text{Sv} = 110\text{m Sv}$$

Conforme a Tabela 5 a dose radiológica recebida por esse pesquisador ultrapassou aproximadamente duas vezes a dose anual máxima estabelecida pelos organismos regulamentadores. Em consequência desse acidente, o trabalhador precisa ser poupado do contato com material radioativo por dois anos, como também deve ter acompanhamento hematológico e clínico.

As normas básicas de proteção radiológica podem ser consultadas na Resolução n. 6/73 da CNEN (CNEN NE – 3.01; CNEN NE 6.02).

Lei do Inverso do Quadrado da Distância

Conhecida a taxa de exposição em um determinado local "d_1", pode-se calcular a taxa de exposição $d_2$em outro ponto pela relação:

$$\frac{T_{Exp1}}{T_{Exp2}} = \frac{d_2^2}{d_1^2} \qquad (18)$$

Cálculo do número de camadas semirredutoras (CSR)

Conhecida como a taxa de exposição $T_{EXP(0)}$ em um determinado local pode-se também reduzi-la com o uso de blindagens em absorvedores de espessura x. Para isto é preciso conhecer o valor da camada semirredutora x_{112} dp absorvedor para a radiação γ ou x considerada. A relação que permite calcular a nova taxa de exposição $T_{exp(x)}$ é dada por:

$$\frac{T_{Exp(0)}}{T_{Exp(x)}} = 2^n$$

$T_{Exp(0)}$ = sem barreira
$T_{Exp(x)}$ = com barreira
n = nº de CSR

Resumindo, as regras básicas da radioproteção (Dosimetria Externa) seguem as relações:

1. Distância	↑ Distância	↓ Dose
2. Tempo	↓ Tempo exposto	↓ Dose
3. Barreira	↑ Barreira	↓ Dose
4. Decaimento	↑ Tempo de decaimento	↓ Dose

EXEMPLO DE CÁLCULO DE DOSE

Estimar a dose de radiação à qual um técnico estará exposto para a realização de um radioimunoensaio típico, adotando as seguintes premissas:

- A atividade radioativa usada no ensaio é de 40.000 dpm/tubo = 40000/2,22*10⁶ **μCi/tubo = 0,018 μCi/tubo**
- Se a rotina incluir 100 tubos, então a atividade total a ser manuseada será igual a: 0,018*100=1,8 **μCi**
- ou **6,7*10–5 GBq**

A taxa de dose pode ser calculada pela expressão:

$$mGy/h = \Gamma \left(\frac{mGy \cdot m^2}{GBq \cdot h} \right) \cdot \frac{A}{d^2} \qquad (20)$$

Tabela 6. Valores de Γ (gamão) de alguns radioisótopos.

Nuclídio	$\Gamma\left(\frac{C/kg\ \Phi\ m^2}{GBq\ \Phi\ h}\ \Phi\ 10^{-6}\right)$	$\Gamma\left(\frac{R\ \Phi\ m^2}{Gi\ \Phi\ h}\right)$	$\Gamma\left(\frac{mGy\ \Phi\ m^2}{GBq\ \Phi\ h}\right)$
^{11}C	4,11	0,59	0,1595
^{141}Ce	0,24	0,035	0,0095
^{137}Cs	2,30	0,33	0,0892
^{57}Cr	0,11	0,016	0,0043
^{57}Co	0,63	0,09	0,0243
^{58}Co	3,84	0,55	0,1486
^{60}Co	9,20	1,32	0,3568
^{64}Cu	0,84	0,12	0,0324
^{67}Ga	0,77	0,11	0,0297
^{198}Au	1,60	0,23	0,0622
^{125}I	0,49	0,07	0,0189
^{131}I	1,53	0,22	0,0595
^{59}Fe	4,46	0,64	0,1730
^{85}Kr	0,03	0,004	0,0011
^{54}Mn	3,28	0,47	0,1270
^{99}Mo	1,26	0,18	0,0486
^{42}K	0,98	0,14	0,0378
^{43}K	3,90	0,56	0,1514
^{226}Ra	5,75	0,825	0,223
^{86}Rb	0,35	0,05	0,0135
^{22}Na	8,37	1,20	0,343
^{24}Na	12,83	1,84	0,4973
^{85}Sr	2,09	0,3	0,0811
^{133}Xe	0,07	0,01	0,0027

A constante Γ é característica do radioisótopo e pode ser obtida na Tabela 6.

Assim, supondo que o radioisótopo seja o ^{125}I ($\Gamma = 0{,}0189 \frac{mGy \cdot m^2}{GBq \cdot h}$) e e que o técnico mantenha uma distância média entre seu corpo e os tubos de ensaio de aproximadamente 40 cm (0,4 m), a taxa de dose será estimada em:

$$mGy/h = 0{,}0189 \times \frac{6{,}7 \times 10^{-5}}{0{,}4^2} = 3{,}17 \times 10^{-8}\ mGy/h$$

Se o técnico tem uma jornada de 6 h/dia realizando esse mesmo tipo de trabalho, terá como expectativa diária de exposição a dose de:

$$3{,}17 \times 10^{-8}\ mGy/h \times 6\ h = 2{,}22 \times 10^{-7}\ mGy/dia$$

ou semanalmente (5 dias/semana): $1{,}11 \times 10^{-6}$ mGy/semana.

Essa dose estendida ao ano, considerando um mês de férias, ou seja, 47 semanas efetivas de trabalho, será de: $5{,}2 \times 10^{-5}$ mGy/ano. Essa dose é despresível quando se consideram os limites descritos na Tabela 5.

LEGISLAÇÃO BRASILEIRA DE USO DE RADIOISÓTOPOS

A CNEN é o órgão que regulamenta a utilização de material radioativo no país, credencia laboratórios e pessoal e fiscaliza o cumprimento de normas de proteção (CNEN NE -3.01; CNEN NE -6.02)[3].

A legislação brasileira classifica os laboratórios que manipulam fontes radioativas não seladas nos grupos IV, V e VI (Quadro 1) Os laboratórios clínicos que fazem radioimunoensaios, os laboratórios de biologia molecular e as unidades de medicina nuclear fazem parte desses grupos.

Essa classificação toma como base a radiotoxicidade dos elementos radioativos e suas atividades radioativas (ver norma CNEN n. 6.02). Os radioisótopos ^{3}H, ^{99m}Tc e ^{113m}I são considerados de baixa radiotoxicidade, ^{14}C, ^{35}S e ^{32}P são considerados de "relativa" radiotoxicidade e finalmente os radioisótopos ^{125}I e $^{131}I_m$ são considerados de alta radiotoxicidade. O grau de radiotoxicidade dos demais radioisótopos são apresentados na tabela do anexo da norma CNEN – 6.02.

Para a regularização de seu funcionamento o laboratório deve cumprir certas regras básicas em função da sua classificação.

A norma CNEN n . 3.01 (CNEN NE – 3.01), que descreve as Diretrizes Básicas de Proteção Radiológica, define:

"Acidente – é o desvio inesperado e significativo das condições normais de operação de uma instalação, que possa resultar em danos à propriedade e ao meio ambiente ou em exposições de trabalhadores e de indi-

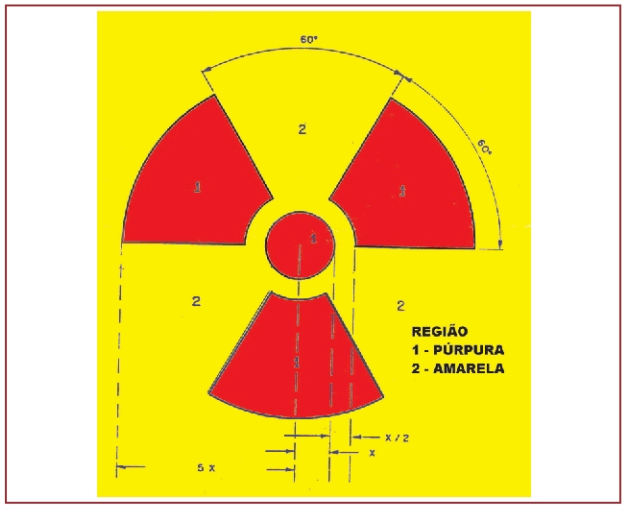


Figura 3. Símbolo internacional de radiação.

Quadro 1. Classificação típica de enquadramento dos laboratórios de biociências e os requisitos básicos para seu funcionamento*

Grupo (Exemplos)	Exigência para Funcionamento
IV (Pequenos laboratórios de radioimunoensaios)	• Autorização para aquisição de material radioativo • Autorização para operação
V (Laboratórios médios de radioimunoensaio e pequenas unidade de medicina nuclear)	• Licença de construção • Autorização para aquisição de material radioativo • Autorização para operação
VI (Laboratórios de radioimunoensaios que fazem suas próprias radiomarcações, unidades de Medicina Nuclear)	• Aprovação prévia • Licença de construção • Autorização para aquisição de material radioativo • Autorização para operação

* Os critérios para classificar o laboratório encontram-se na norma CNEN n. 6.02. Fundamentalmente eles dependem da radiotoxicidade dos radioisótopos utilizados e de suas atividades.

Tabela 7. **Classificação das áreas de atividade na instalação de acordo com a norma CNEN-3.01.**

Tipo de área	Descrição e características	Nível de Dose
Livre	Área isenta de regras especiais de segurança onde as doses equivalentes efetivas anuais não ultrapassam o limite primário* para indivíduos do público**	< 1mSv
Restrita	Área sujeita a regras especiais de segurança na qual as condições de exposição podem ocasionar doses equivalentes efetivas anuais superiores a 1/50 (dois centésimos) do limite primário para trabalhadores*.	> 1mSv
Supervisionada	Área restrita na qual as doses equivalentes efetivas anuais são mantidas inferiores a 3/10 (três décimos) do limite primário para trabalhadores.	> 1mSv e <15 mSv
Controlada	Área restrita na qual as doses equivalentes efetivas anuais podem ser iguais ou superiores a 3/10 (três décimos) do limite primário para trabalhadores.	≥ 15 mSv

* *Vide* Tabela 5

** Indivíduo do público – qualquer membro da população não exposto à radiação ocupacionalmente, inclusive trabalhadores, estudantes e estagiários quando ausentes das áreas restritas da instalação.

víduos do público acima dos limites primários de dose equivalente estabelecidos pela CNEN."

Na norma CNEN n. 3.01 são estabelecidos critérios para enquadrar as áreas de um laboratório. Essa classificação deve levar em conta as possibilidades do risco de trabalhadores e de indivíduos do público se exporem a níveis de dose próximos de limites aceitáveis. Dentro desse critério cada área é classificada conforme a Tabela 8.

As áreas restritas têm de ser claramente identificadas, monitoradas conforme norma específica da CNEN. Devem ser sinalizadas com o símbolo internacional de radiação (Figura 3), bem como todas as blindagens ou embalagens das fontes radioativas, e providas, para orientação em caso de acidente, de instrumentações e procedimentos apropriados sempre afixados em paredes, quadros e outros lugares bem visíveis.

O acesso às áreas restritas é limitado somente às pessoas autorizadas pelo supervisor de proteção radiológica (pessoa devidamente credenciada pela CNEN).

Controle radiológico de trabalhadores

A empresa, isto é, os responsáveis pela instalação onde se utiliza material radioativo, deve manter um registro para cada trabalhador. Nesse registro deve ser anotada toda e qualquer ocorrência que acarrete ao profissional uma exposição à dose de 1/10 (um décimo) do limite anual (que é de 50 mSv/ano, por exemplo, para o corpo inteiro) aplicado ao período de tempo ao qual a monitoração se refere (Tabela 5).

Qualquer atividade que ocasione 3/10 (três décimos) da fração do limite anual deve ser alvo de uma avaliação, devendo ser proposto um plano para evitar tal ocorrência.

Os trabalhadores envolvidos com atividades em áreas controladas devem ser individualmente monitorados de acordo com normas específicas da CNEN.

O trabalhador deve ser submetido a controle médico, que inclua os seguintes exames:

1. Exame pré-ocupacional a fim de verificar se está em condições normais de saúde para iniciar a sua ocupação, incluindo uma análise do seu histórico médico e radiológico sobre exposições anteriores.
2. Exame periódico, de acordo com a natureza da função e com a dose recebida pelo trabalhador.
3. Exame especial, para trabalhadores que tenham recebido doses superiores aos limites primários estabelecidos na norma CNEN nº 3.01, ou quando o médico julgar necessário.
4. Exame pós-ocupacional, logo após o término da ocupação e dependendo do seu resultado, cuidados ou exames médicos posteriores.
5. Após o conhecimento da ocorrência de exposições acidentais ou provenientes de operações de emergência as doses dos trabalhadores devem ser imediatamente avaliadas.
6. Qualquer trabalhador que, numa única exposição venha a receber uma dose superior a duas vezes os limites primários deve ser submetido a controle médico adequado, conforme recomendação ou norma específica da CNEN.
7. Nenhum trabalhador deve desempenhar tarefas contrariamente ao parecer médico.
8. Para cada trabalhador deve existir um registro médico e radiológico atualizado, a ser conservado por toda sua vida, ou, no mínimo, por trinta anos após o término de sua ocupação, mesmo que já tenha falecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dyson WA. Radiation physics with applications in medicine and biology. 2.ed. New York: E. Horwood; 1993, 256p.

2. Rollo FD. Nuclear medicine physics, instrumentation and agents. Saint Louis: The C.V. Mosby; 1977.
3. Comissão Nacional de Energia Nucear/CNEN/SP NE Noções básicas de radioproteção. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 1988.
4. Shapiro J. Radiation protection. A guidefor scientists and Physicians. 3. ed. Harvard University Press; 1990. 494p.
5. Sordi GAA. Proteção radiológica. São Paulo: IPEN/CNEN; 1990, 33p.
6. International Commission on Radiological Protection (ICRP). The principles and general procedures for handling emergency and accidental exposure of workers. Publicação n. 28. Oxford: Pergamom Press; 1978. Disponível em: http://www.icrp.org/worldatom/periodicals. Acesso em: 27/8/2001.
7. Gimenez JC. Publicação da CNEA-AC/87. Efectos biologicos de las radiaciones ionizantes. Comission Nacional de Energia Atomica, Univ. Buenos Aires, Minist. Salud y Accion Social, Buenos Aires, 1987.
8. International Commission on Radiological Protection (ICRP) Publicação Nº 22, Implications of commission recommendations that doses be Kept as low as readily achievable Pergamon Press, 1974.
9. World Health Organization (WHO). Health consequences of the Chernobyl accident: results of the ipheca projects and related national programmes; summary report/OMS. Geneneve: WHO; 1995. 38p.
10. International Commission on Radiological Protection (ICRP). Publicação n. 30. Radiation Protection: Limits for intakes of radionuclides by works. Part 1. ICRP. Oxford: Pergamom Press; 1979. Disponível em: http://www.icrp.org/wordatom/periodicals. Acesso em: 27/8/2001.
11. International Atomic Energy Agency (IAEA). Recommendations for the safe use and regulation of radiation sources in industry medicine, research and teaching. Vienna: International Atomic Energy Agency [Lanham, MD UNIPUB]; 1990. 98p.
12. Wang CH, Willis DL. Radiotracer methodology in biological science. Englewood Cliffs: Prentice-Hall; 1965.
13. Adans N, Fell TP. Recycling and metabolic models for internal dosimetry: with special reference to iodine. Radiation Protection Dosimetry. 1988;22(3):179-82, .
14. Fleck CM, Schöllnberger H, Kottbauer M, Dockal T, Prüfert U. Modeling radioprotective mechanisms in the dose relation at low doses and low dose rates of ionizing radiation. Mathematical Biosciences. 1999;155:13-44.
15. National Council on Radiation Protection and Measurements. NCRP Report Publicação n. 84. General concepts for the dosimetry of internally deposited radionuclides. Recommendations of the National Council on Radiation Protection and Measurements. Bethesda. 1985;20814.
16. International Commission on Radiological Protection (ICRP). Publicação n. 26. Oxford: Pergamon Press; 1977.
17. Gusev IA, Guskova AK, Mettler Jr FA. Medical management of radiation accidents. Boca Raton: CRC Press; 2001. 611p.
18. Butler J, Land JE, Swallow AJ. Chemical mechanisms of the effects of high energy radiation on biological systems. Radiat Phys Chem. 1984;24(3/4):273-82.
19. Fedberg RS, Carew JA. Water radiolysis products and nucleotide damage in gama-irradiated DNA. Int J Radiat Biol. 1981;40(1):11-7.
20. American Cancer Society. 1979 Cancer facts and figures; 1978.
21. Sohrabi M. The State-of-the-art on Woldwide studies in some environments with elevated naturally occurring radioactive materials (NORM). Appl Radiat Isot. 1998;49(3):169-88.
22. Wachsmann F. Are small doses really so dangerous? Eletromedicine. 1987;55(3):86-90.
23. Fremlin JH. Can radiation be good for us? The Nuclear Engineer. 1983;25(4):102-9.
24. International Commission on Radiological Protection (ICRP). Publicação n. 23. Reference man: anatomical, physiological and metabolic characteristics. Pergamon Press, 1975. Disponível em: http://www.icrp.org/wordatom/periodicals. Acesso em: 27/8/2001.
25. Valentin J. What if? ICRP guidance on potencial radiation exposure. Disponível em: http/www.icrp.org/wordatom/periodicals. Acesso em: 27/8/2001.
26. Comissão Nacional de Energia Nuclear/CNEN. NE – 3.01 – Diretrizes básicas de proteção radiológica. Disponível em: http://www.cnen.org.br. Acesso em: 27/8/2001.
27. Comissão Nacional de Energia Nuclear/CNEN NE – 6.02 – Licenciamento de instalações radiativas. Disponível em: http://www.cnen.org.br. Acesso em: 27/8/2001.

capítulo 7

Organismos geneticamente modificados na alimentação humana

Flavio Finardi Filho
Denise Mayumi Cobaiashi
Sinara Bakes

INTRODUÇÃO

A manipulação genética de produtos destinados à alimentação humana e de animais é uma realidade de quase duas décadas na produção de vegetais e, em período superior a esse, na obtenção de microrganismos fermentativos para a fabricação de derivados lácteos. O desenvolvimento de novas cepas de microrganismos e de variedades de plantas e animais geneticamente modificados (GM) permitiu disponibilizar vacinas para imunização de animais de pequeno e médio porte, ampliar opções de sementes para uso em diferentes técnicas agrícolas, aumentar a rotatividade de culturas, a produtividade no campo e a disponibilidade de gêneros alimentícios. Em breve, esta nova via de desenvolvimento elevará o teor de nutrientes em alimentos básicos e de alta demanda em populações carentes. Dados recentes mostram que sementes GM já cobrem uma área de 148 milhões de hectares cultivados[1], ou seja, 10% da área mundial destinada à agricultura, sendo o Brasil o segundo maior produtor de grãos GM, com 25,4 milhões de hectares. O estudo indica que 81% da soja, 64% do algodão, 29% do milho e 23% da canola são produzidos mundialmente com plantas GM.

Mesmo com esse avanço, a recombinação genética de organismos destinados à alimentação continua a despertar suspeitas em segmentos sociais que até admitem seu uso na produção de soros, vacinas e fármacos, mas apresentam resistência ao consumo diário em componentes da dieta. Entre os argumentos contrários à adoção da técnica de manipulação genética estão: a quebra das barreiras naturais no cruzamento interespécies ou inter-reinos, a imprevisibilidade da introdução de genes em *locus* aleatório do genoma e a incorporação de genes de espécies estranhas de organismos inferiores não alimentícios.

No presente capítulo serão apresentados os dados relativos à segurança das matérias-primas alimentícias derivadas de organismos geneticamente modificados (OGM), obtidos por meio de mecanismos de controle aplicados antes, durante e após as modificações introduzidas, de testes químicos que garantem os níveis de nutrientes, de ensaios específicos para assegurar a inocuidade das transformações e de medidas de gerenciamento pós-liberação comercial.

CONCEITOS E PRECONCEITOS

A recombinação gênica, também chamada de tecnologia do DNA recombinante, permitiu alterar a sequência de bases, que estabelece a herança genética de todo ser vivo, por meio de mutações dirigidas. Essa tecnologia quebrou a barreira natural, que limitava o cruzamento apenas entre indivíduos da mesma espécie, passando a permitir a incorporação de genes até de organismos de reinos diferentes, como os de bactérias em plantas e os de animais em microrganismos. Esses são verdadeiramente os casos de transgenia. Paralelamente, a técnica possibilita a reintrodução de um gene no organismo de origem após modificação ou mutação

in vitro. Permite ainda a reincorporação de genes que foram perdidos durante os diversos processos de melhoramento genético de novas variedades de plantas, linhagens de animais e cepas de microrganismos. Nesses exemplos não ocorre a transferência de genes estranhos à espécie; portanto, o procedimento não é considerado transgenia.

Nas últimas quatro décadas, o termo mutação foi usado no seu significado literal, ou seja, como uma mudança na sequência dos nucleotídeos do material genético de um organismo. Os casos mais conhecidos de mutações estão geralmente associados às falhas genéticas bem caracterizadas em diversas áreas da medicina, às consequências causadas por radiações nucleares e por produtos químicos teratogênicos. Até então, as mutações eram sinônimos de desvios de padrões fenotípicos normais e até de aberração genética. O receio de novas ocorrências de alterações não controladas e indesejáveis em microrganismos, insetos, plantas e animais causou enorme preocupação sobre a segurança das técnicas de manipulação gênica em praticamente todos os países que se lançaram em pesquisas e desenvolvimento de OGM.

Sofismas são usados alegando possíveis efeitos epistáticos e pleiotrópicos em plantas geneticamente modificadas. Esses efeitos poderiam anular produtos de expressão de genes regulares, com comprometimento dos níveis normais de nutrientes, ou que afetariam mais de uma característica da planta, produzindo compostos tóxicos e alergênicos. Acrescentam-se também ao pensamento preconceituoso as denominações "alimento geneticamente modificado" e "alimento transgênico", alcunhas tecnicamente incorretas, pois trata-se apenas de uma figura de linguagem na qual se toma a parte, como os grãos de soja ou milho, pelo todo, que é a planta que fornece os grãos, sendo estes ingredientes de diversos alimentos. Além disso, algumas das modificações introduzidas nas plantas, como proteínas e enzimas, não são sequer expressas nas partes comestíveis desses vegetais, tampouco alteram as características fenotípicas, como mostrado na Figura 1.



Figura 1. Amostras de soja convencional (C), geneticamente modificada (M) e orgânica (O), sem características fenotípicas que as distingam.

SEGURANÇA E INOCUIDADE DOS ALIMENTOS

O termo "segurança dos alimentos" foi introduzido para abrigar diversos programas de melhoria da qualidade de qualquer tipo de alimento, seus ingredientes e temperos, e de bebidas, mediante a recomendação de procedimentos que devem ser adotados para a adequada manipulação em todas as etapas da produção: fabricação, armazenamento, distribuição, comercialização e assistência pós-venda; ou seja, procedimentos aplicados desde o campo até a mesa do consumidor, termo cuja correspondência em português é inocuidade alimentar. Essa preocupação veio a partir da criação de um órgão supragovernamental, independente, denominado Autoridade Alimentar Europeia, que tem a finalidade de garantir um nível elevado de segurança dos alimentos. A agência se incumbe de tarefas fundamentais, que englobam a formulação de pareceres científicos independentes sobre todos os aspectos relacionados com a segurança dos alimentos, a gestão de sistemas de alerta rápido, a comunicação e o diálogo com os consumidores sobre questões de dietas equilibradas e saúde, bem como a constituição de redes com as agências nacionais e as organizações científicas[2].

Após um cronograma detalhado de harmonização de normas e procedimentos entre os estados europeus membros, foram criados mecanismos de controle, de formação de pessoal e de esclarecimento da população mediante sistema transparente de discussão com consultas públicas e autonomia de decisão. Exemplo de atividade desenvolvida pela European Food Safety Authority (EFSA), juntamente com o European Center for Disease and Prevention Control (que, embora não relacionada a OGM, possui caráter continental), foi o gerenciamento das ações para identificação e controle do surto de contaminação por *Escherichia coli*, sorotipo O104:H4 (Stx2-positivo, *eae*-negativo, *hly*-negativo, ESBL, aat, aggR, aap), produtora de Shiga-toxina, encontrada em lavouras de produtos orgânicos[3].

Um programa conjunto entre a Food and Agriculture Organization (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu normas de conduta para a pesquisa e o desenvolvimento de OGM, de modo a evitar o aparecimento de moléculas indesejáveis, como toxinas e proteínas alergênicas em novos microrganismos, plantas e animais modificados. A comissão permanente

do *Codex Alimentarius*, composta por representantes de todos os países signatários, coordena as atividades em nome das duas organizações e publica regularmente informes de alcance mundial sobre a inocuidade dos produtos destinados à alimentação humana. No Brasil, o órgão responsável pela regulamentação, por ações de avaliação e pela liberação experimental e comercial de produtos derivados da tecnologia de recombinação genética é a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), vinculada ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação[4].

SISTEMAS DE QUALIDADE PARA ALIMENTOS DERIVADOS DE OGM

Uma das bases fundamentais para a garantia da qualidade de alimentos é a adoção das boas práticas de fabricação (BPF) e da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), focalizando sobretudo os aspectos higiênico-sanitários. Mais especificamente, o sistema APPCC em seu sentido amplo preocupa-se em prever, monitorar e combater as causas de enfermidades ou danos à saúde humana de origem biológica, química ou física. O pleno entendimento de APPCC requer a padronização de conceitos e a definição precisa de termos, como perigo, risco, monitoramento e outros.

Tais conceitos foram estabelecidos pela comissão permanente do *Codex Alimentarius* para os programas mencionados, sendo agora adotados para monitorar os produtos GM, nos quais são avaliados os perigos de uma exposição a agentes causadores de danos à saúde humana. Por definição, *perigo* é a presença do agente causador de danos, enquanto *risco* é a probabilidade de ocorrência do agente no alimento. Em forma de uma equação matemática, a definição seria: perigo = (exposição ao agente × risco). Pode-se imaginar que um DNA que codifica para uma proteína ativa com a finalidade de controlar insetos predadores seja introduzido em determinada planta; o perigo, no caso, seria de a proteína causar reação adversa em humanos; o risco, por sua vez, seria a probabilidade estatística de um indivíduo sensível à proteína consumir o alimento que contém a molécula não desnaturada e apresentar os sintomas. É oportuno mencionar que a exposição ao agente em OGM é infinitamente pequena, uma vez que as moléculas proteicas introduzidas representam, na quase totalidade das modificações, enzimas de baixa expressão que controlam uma etapa secundária do metabolismo de plantas.

Uma sistemática de procedimentos de controle foi proposta por König et al.[5], sendo posteriormente adotada pelos organismos internacionais como FAO/OMS (Figuras 2 e 3). O esquema da Figura 2 representa os passos gerais desde o planejamento das modificações até as ações de monitoramento pós-liberação comercial de plantas GM. A Figura 3 ilustra o primeiro nível de avaliação do vegetal parental, os procedimentos de transformação, as características dos produtos dos genes e o monitoramento de segurança da planta GM, tendo

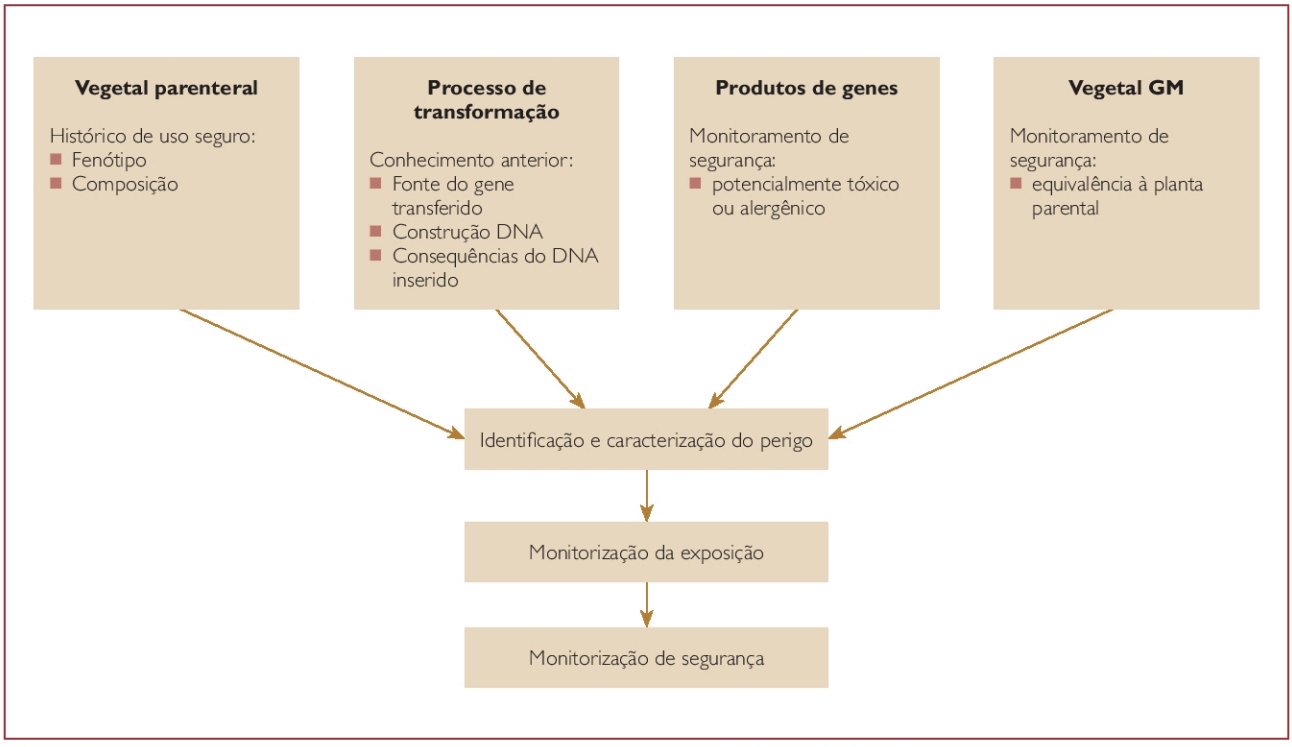


Figura 2. Etapas para plano de desenvolvimento de seguro de OGM. Adaptada de König et al.[5].

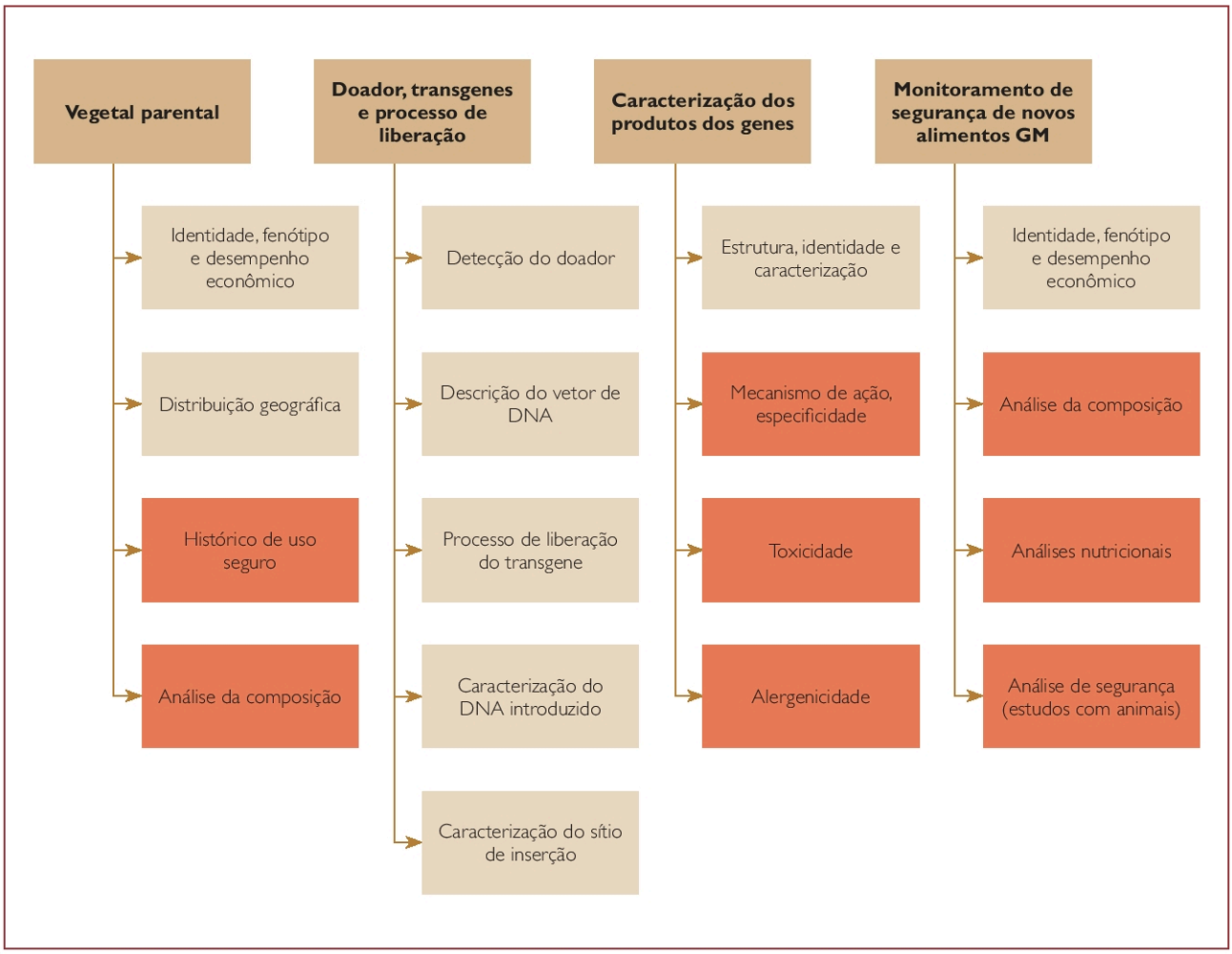


Figura 3. Controle de segurança das distintas fases do processo de transformação de plantas. As etapas destacadas são as mais importantes para o monitoramento de inocuidade dos produtos para uso em alimentos. Adaptada de König et al.[5].

sido destacadas as etapas mais relevantes de avaliação de segurança e inocuidade para fins alimentícios. Sobre o vegetal genitor, destacam-se os pontos relativos ao histórico seguro de uso e à sua composição química e nutricional, considerados essenciais para a recepção dos genes, pois em caso de iniquidade, a transformação é denegada. Do mesmo modo, a caracterização de produtos dos genes objetos da transformação deverá mostrar inocuidade quanto aos mecanismos de ação envolvidos, à toxicidade e alergenicidade conhecidos das proteínas expressas, também essenciais para o desenvolvimento da transformação. Por fim, destacam-se na Figura 3 os mecanismos imprescindíveis para assegurar a inocuidade do produto transformado, como análises composicional e nutricional. Uma recomendação extra de avaliação com animais seria necessária em caso de dúvidas surgidas durante o processo de transformação, porém esta etapa não será requerida se as avaliações dos parâmetros anteriores de segurança comprovarem a inocuidade do vegetal e dos insertos.

Com base em hipóteses de desvios das finalidades para as quais as modificações genéticas são propostas, foram estabelecidas rotinas de avaliação e controle de procedimentos ainda durante a fase de elaboração do projeto de modificação. Assim, análises *in silico* são realizadas como etapa preliminar do planejamento, para que não ocorra uma surpresa indesejável ao final do desenvolvimento de um novo OGM. Foi o que aconteceu uma única vez, em toda a história da moderna biotecnologia, com a tentativa de melhorar o valor nutritivo de soja com a incorporação da albumina 2S, rica em aminoácidos sulfurados, obtida de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*): após a incorporação com êxito da nova proteína, ficou constatado que esta carregou para a soja mais um fator alergênico, entre outros tantos que a soja já possui[6]. Na hipótese de o inserto vir a expressar uma possível proteína alergênica, são encaminhados também ensaios de digestibilidade *in vitro*, como mais um critério de seleção de proteínas potencialmente inadequadas para fins de modificação genética[7]. O teste

consiste em submeter a proteína isolada à ação de pepsina em fluido estomacal simulado com acompanhamento por amostragem sequencial a partir de 15 segundos após a introdução da enzima. O resultado de baixa digestão é revelado pela presença de formas nativas da proteína em tempos superiores a 2 minutos.

Uma revisão sobre o tema de análise de risco está descrita no capítulo "Biossegurança e meio ambiente" e também foi publicada por Craig et al.[8]. Esses autores chamam a atenção para os cuidados ao se gerar um excesso de dados, muitos deles de pouca serventia, e criar mais dúvidas do que certezas.

EQUIVALÊNCIA SUBSTANCIAL

A avaliação preliminar de inocuidade dos novos alimentos GM baseia-se no conceito de equivalência substancial adotado pelos países membros da União Europeia, ou sistema SAFEST, desenvolvido pelo grupo de trabalho em segurança alimentar da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Este conceito fundamenta-se na comparação entre composições químicas de organismos convencionais e os geneticamente modificados, bem como de seus respectivos produtos derivados, utilizados como alimentos. A composição química nutricional semelhante pode servir de parâmetro para a avaliação de segurança de OGM para consumo humano e animal. A comparação entre o organismo modificado e o genitor isogênico, assim como o histórico de consumo, permite estabelecer critérios de segurança e inocuidade dos OGM com alto grau de certeza quanto a sua equivalência aos produtos tradicionais, ou seja, se eles são igualmente seguros ou equivalentes.

Em análises de equivalência substancial, são quantificadas as grandes frações nutritivas das partes do organismo empregadas como alimentos. Os OGM liberados até o momento (grãos de soja, milho e caroços de algodão) foram avaliados quanto aos teores de umidade, proteínas, fração lipídica, carboidratos totais e fibras, e resíduo mineral fixo. O detalhamento de cada grupo de componentes também é executado por meio de análises de aminoácidos, de ácidos graxos, açúcares, amido, fibras solúveis e insolúveis, minerais e alguns outros componentes presentes de modo distinto em cada vegetal, como lecitina, inibidores enzimáticos, ácido fítico (na soja) e gossipol (no algodão). Todos os dados são analisados, além da comparação com as variedades convencionais, com base em tabelas composicionais e metodologia estatística, evitando que pequenas oscilações de resultados sejam interpretadas como comprovação de não equivalência. Pode-se citar resultados obtidos em nosso laboratório como três variedades isogênicas de soja em relação às derivadas GM que apresentaram pequena variação positiva nos teores de proteína entre 1 e 5%, sem que a soja GM fosse considerada superior à convencional. Igual condição foi demonstrada para grupos de ratos alimentados com as variedades isogênicas e transgênicas, atestando a equivalência substancial entre as amostras analisadas.

ANÁLISE E ENSAIOS ESPECÍFICOS

A metodologia de detecção e controle de eventos GM destinados à alimentação está consolidada pelo emprego de reação da polimerase em cadeia (PCR), sendo o sistema de acompanhamento em tempo real o mais indicado para a quantificação do material em análise. O método consiste em submeter o DNA extraído da amostra a reações com oligonucleotídeos padronizados para cada tipo de evento de transformação. A amplificação de fragmentos específicos à planta e ao DNA inserido revela a presença de OGM. A quantificação do OGM na amostra está diretamente relacionada ao número de cópias de DNA modificado no frasco de reação; desse modo, a reação atinge um patamar de detecção mais rápido quanto maior o número de fragmentos de DNA modificado na amostra. Essa técnica está padronizada internacionalmente, sendo aceita para comprovação de produtos em comércio exterior, análises de fiscalização, controles alfandegários e análises de identidade e certificação de *commodities* agrícolas.

A metodologia da PCR requer a presença de quantidades expressivas de DNA íntegro para o desenvolvimento adequado das reações. Possui limitações de emprego em alimentos e matérias-primas submetidas a processamento térmico intenso, no qual o DNA apresenta-se degradado, ou que tenham passado por processos de purificação, como no caso de óleos e gorduras, bem como em féculas e amidos isolados. Nesse aspecto, o processamento deve ser entendido como uma etapa normal de transformação de grão de cereais e leguminosas em produtos alimentícios, conforme vem ocorrendo há séculos, melhorando a palatabilidade e a digestibilidade, diminuindo os fatores antinutricionais e as proteínas alergênicas e, sobretudo, eliminando microrganismos patogênicos. Portanto, o processamento reduz a eficiência das provas de detecção de OGM, mas estas podem ser constatadas nas matérias-primas originais, mantendo assim a capacidade de rastreabilidade, caso seja necessária sua identificação.

A técnica da PCR de alta sensibilidade muitas vezes induz a resultados dúbios provocados pela presença adventícia de outras culturas, por falhas na segregação de lotes durante o transporte e armazenamento. Recentemente, agricultores tiveram seus produtos orgânicos rotulados como GM, após testes com PCR, em virtude do uso de colheitadeiras alugadas de outros agricultores. A conclu-

são a que eles mesmos chegaram é que os equipamentos não foram devidamente lavados para impedir a presença adventícia de grão e resíduos de transgênicos. O mesmo fato pode ser comprovado em indústrias que recebem diariamente lotes de grãos com resíduos de outras culturas.

Metodologias ainda não padronizadas, mas de uso corrente em pesquisas nos campos de proteômica e metabolômica, são testadas em OGM com excelentes resultados. A revelação de mapas proteicos por meio de eletroforese bidimensional e a identificação de cada peptídeo por espectroscopia de massa permitem avaliar a expressão e a presença de proteínas regulares e introduzidas pelas modificações nas porções de plantas empregadas como alimentos. As técnicas servem também para o acompanhamento de grupos proteicos de importância nutricional, de proteínas com propriedades funcionais, de interesse industrial, bem como a detecção da presença de toxinas e alérgenos.

Da metabolômica vem a técnica de microarranjos de RNA, com avaliação de expressão de genes numa determinada fase de desenvolvimento dos diversos órgãos ou partes da amostra GM. Esta técnica se associa às análises de metabólitos dos tecidos em questão, determinando as correlações existentes. Tais estudos são particularmente endereçados à pesquisa de alimentos funcionais e seleção de variedades mais promissoras nesse aspecto. Uma aplicação deste conjunto de técnicas permitiu comprovar a similaridade de componentes entre o arroz genitor, o seu derivado GM e uma amostra de arroz selvagem em relação a outra variedade comercial melhorada por irradiação. A variedade irradiada mostrou alterações em seu genoma, distinguindo-se das demais amostras analisadas, o que comprova que o método clássico de obtenção de novas variedades por irradiação pode causar mais transformações moleculares do que a inserção de transgenes[9].

SEGURANÇA DO CONSUMIDOR

Conforme discutido ao longo do texto, é possível inferir que a segurança do consumidor está garantida pelas distintas etapas de controle às quais as plantas GM são submetidas antes de sua liberação para o consumo. Isto não é apenas uma imposição dos organismos governamentais, mas interesse de garantia comercial e sobrevivência das empresas e institutos de pesquisas, das instituições internacionais e de comércio mundial. É possível, portanto, garantir que o alimento derivado de OGM é mais seguro que o convencional que lhe deu origem. Os testes minuciosos aplicados a variedades GM nunca são aplicados durante o desenvolvimento de uma planta convencional. Os ensaios de impacto ambiental, resíduos de defensivos, composição, toxicidade, alergenicidade, inocuidade e até de avaliação nutricional, que são realizados nas plantas GM, não são realizados nas plantas convencionais

Embora o comércio internacional esteja regulamentado por norma da OECD, os governos locais, ou até regionais, estabelecem critérios para a aplicação de limites da presença de OGM em alimentos. Na maioria dos casos, no entanto, são impostas barreiras comerciais para proteção da agricultura local. Há diferentes níveis de tolerância quanto à presença de OGM em alimentos e insumos que dispensam a rotulagem obrigatória. Assim, nos Estados Unidos, os alimentos que contêm matérias-primas obtidas de plantas GM estão dispensados de rotulagem especial ou de alerta sobre sua presença. Os órgãos de regulamentação e controle americanos United States Department of Agriculture (USDA) e Food and Drug Administration (FDA) entendem que, uma vez avaliada a segurança ambiental e a inocuidade dos OGM, não há razão superior que imponha uma rotulagem nos produtos derivados dessas plantas, microrganismos ou animais. Desse modo, com rotulagem facultativa, o povo americano vem consumindo produtos geneticamente modificados desde o primeiro lançamento feito em 1994 com o tomate *Flavr Savr*®. Depois vieram a soja, o papaia, o milho, entre outros (Tabela 1).

Em ordem decrescente de tolerância, o Japão e a Rússia permitem 5% de presença de OGM em produtos convencionais para dispensa de rotulagem. No Brasil, esse limite foi estabelecido no nível de 1%, enquanto na Europa adotaram como norma geral a tolerância de

Tabela 1. Número de eventos de plantas GM liberadas para comercialização no Brasil e no exterior.

Plantas (*nomes científicos*)*	Brasil	Total (Brasil e exterior)
Milho (*Zea mays*)	16	42
Algodão (*Gossypium hirsutum*)	9	19
Canola (*Brassica napus*)	0	14
Soja (*Glycine max*)	5	10
Tomate (*Lycopersicon esculentum*)	0	6
Batata (*Solanum tuberosum*)	0	4
Beterraba açucareira (*Beta vulgaris*)	0	3
Papaia (*Carica papaya*)	0	2
Moranga (*Cucurbita pepo*)	0	2
Arroz (*Oriza sativa*)	0	2
Trigo (*Triticum aestivum*)	0	1
Alfafa (*Medicago sativa*)	0	1
Chicória (*Cichorium intybus*)	0	1
Feijão (*Phaseolus vulgaris*)**	1	1

* Fonte: CERA – Center for Environmental RiskAssessment – ILSI[10].
** O primeiro produto GM totalmente desenvolvido no Brasil (Fonte: CTNBio[118]).

0,9% de OGM, ambos na cadeia produtiva dos alimentos. De todos, a Suíça é a mais restritiva à presença adventícia, com limite de 0,1% no produto final (Tabela 2). Em todos esses países, a motivação sobre os limites estabelecidos é meramente política, uma vez que não há razões técnicas para as diferenças fixadas em cada país ou região. Se fosse uma razão técnica, poderia se questionar se a Suíça é mais rigorosa na proteção de seus cidadãos do que o Japão? Ou que a saúde dos norte-americanos vale menos do que a dos brasileiros?

Deve-se ressaltar que alegações de limiares de detecção impostos pela metodologia atual não são válidos para a adoção dos teores acima citados. Métodos conhecidos desde os primeiros anos deste século XXI permitem detecção segura a partir de 0,01% de OGM em produtos de baixo nível de processamento, ou seja, que não sofreram altas temperaturas de transformação, garantindo a preservação de DNA íntegro. Limitações técnicas são impostas a alimentos com diversas etapas de processamento com emprego de temperaturas e pressões elevadas, submetidos a condições extremas de pH, ou que sejam extratos de plantas e sementes com etapas de filtração, como os óleos vegetais. Além destes casos, são constatadas também presenças adventícias em sistemas de transporte de grãos, nos quais contêineres são usados para sementes diversas sem cuidados específicos de segregação para produtos convencionais. Resultados ainda preliminares demonstram a "contaminação" de milho e soja GM em grãos convencionais de trigo e arroz, mesmo na ausência de qualquer grão estranho na amostra analisada.

Para os dizeres de rotulagem, o Reino Unido adotou a expressão "contém (nome do ingrediente) geneticamente modificado", porém produtos contendo enzimas ou microrganismos e carnes de animais que se alimentam com ingredientes GM em suas rações estão dispensados de rotulagem. No entanto, no Brasil foi criada uma norma, com o Decreto n. 4.680 de 2003, que obriga a menção ao produto GM com a sua descrição: "(nome do produto) transgênico", "contém (nome do ingrediente ou ingredientes) transgênico(s)" ou "produto produzido a partir de (nome do produto) transgênico". No mesmo dispositivo legal é criado um símbolo de alerta (Figura 4) para identificar alimentos obtidos com ingredientes transgênicos. No entanto, a norma somente vem sendo cumprida por imposição judicial nos casos de óleos de soja e canola, nos quais a rotulagem seria prescindível em virtude da ausência de elementos celulares e moleculares que possibilitem a identificação dos grãos que geraram o óleo extraído. Por derivação, cremes vegetais e molhos de maionese também são rotulados. Em outro segmento, o de ração para animais domésticos, uma ação judicial semelhante igualmente obriga as indústrias a estampar o símbolo e os dizeres de rotulagem.

Tabela 2. Legislação pertinente à rotulagem de OGM em produtos alimentícios.

Região	Limite para não rotulagem	Abordagem
Suíça	0,1%	Produto determinado
União europeia	0,9%	Cadeia produtiva
Brasil	1%	Cadeia produtiva
Japão	5%	Produto determinado
Rússia	5%	Produto determinado
EUA	não	não

NOVOS ALIMENTOS GM

Após uma primeira fase de transformações de plantas e outros organismos com a finalidade de controlar pragas e fidelizar o agricultor ao consumo de sementes associadas a insumos patenteados, teve início uma nova etapa de cruzamento de eventos GM consolidados para obter dois ou mais traços agronômicos[12]. São os eventos piramidados, nos quais os genes de expressão desejados são obtidos por melhoramento genético clássico, ainda que se utilizem ao menos dois eventos GM.

Algumas plantas com genes piramidados foram aprovadas para cultivo em território brasileiro. As vantagens dessas incorporações de traços agronômicos diversos estão na capacidade de adaptação da planta a, por exemplo, dois tipos de herbicidas, com rotatividade de defensivos, assim como a resistência a duas classes de insetos, e em associações de resistência a insetos e tolerância a herbicidas, culminando em safras mais produtivas. Nos casos de vacinas destinadas sobretudo a avicultura, são vários os exemplos de imunizantes com duas ou mais associações, para facilitar o manejo dos animais e garantir produtos finais mais sadios à população.



Figura 4. Símbolo de alimento geneticamente modificado adotado exclusivamente no Brasil.

O processo de liberação comercial do feijoeiro resistente ao vírus mosaico foi aprovado em setembro de 2011 pela CTNBio. Trata-se de uma nova técnica de transformação de plantas pelo uso de RNA de interferência (RNAi), desenvolvida por pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), que permitirá ganhos de produtividade ao pequeno e médio agricultor, sem a introdução de qualquer gene estranho ao genoma da planta. Outro exemplo também de transformação desenvolvida no país é o da cana-de-açúcar, em teste de campo, que expressa diversas cópias de genes participantes da síntese de sacarose, evento no qual se esperam ganhos de produtividade na obtenção de açúcar e de álcool.

Diversos vegetais GM que se encontram na etapa de ensaios confinados têm possibilidades reais de se tornarem comerciais. São leguminosas tolerantes ao estresse hídrico, frutas resistentes a fitopatógenos, nozes e castanhas menos alergênicas, maçãs e cogumelos que não escurecem, entre outros. Mas todos devem ser submetidos aos testes e às avaliações descritas para garantir a segurança e inocuidade dos produtos e acompanhar a estabilidade de sua construção genética e seu consumo ao longo dos anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. James, Clive. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA Brief n. 42. New York, Ithaca: ISAAA; 2010. Disponível em: http://www.isaaa.org/. Acesso em: 22/9/2011.
2. EFSA – European Food Safety Authority. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/gmo/gmoscdocs.htm. Acesso em: 22/9/2011.
3. Scheutz F, Moller Nielsen E, Frimodt-Moller J, Bolsen N, Morabito S, Tozzoli R, et al. Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolyticuraemic syndrome in Germany, May to June 2011. E-alert. Eurosurveillance. Disponível em: http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V16N24/art19889.pdf. Acesso em: 22/9/2011.
4. Colli W. Organismos transgênicos no Brasil: regular ou desregular? Revista USP. 2011;89:148-73.
5. König A, Cockburn A, Crevel RWR, Debruyne E, Grafstroem R, Hammerling U, et al. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. Food and Chemical Toxicology. 2004;42:1047-88.
6. EFSA – European Food Safety Authority. Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: the role of animal feeding trials. Food and Chemical Toxicology. 2008;46:S2-S70.
7. Thomas K, Aalbers M, Bannon GA, Bartels M, Dearman RJ, Esdaile DJ, et al. A multi-laboratory evaluation of a common *in vitro* pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2004;39:87-98.
8. Craig W, Tepfer M, Degrassi G, Ripandelli D. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. Euphytica. 2011;164:853-80.
9. Batista R, Saibo N, Lourenço T, Oliveira MM. Microarray analysis reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. Proceedings of the National Academy of Science of the USA. 2008;105:3640-5.
10. CERA – Center for Environmental Risk Assessment. Disponível em: http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database. Acesso em: 20/9/2011.
11. CTNBio – Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. http://www.ctnbio.gov.br
12. Potrykus I. Plant breeding as an example of 'engineered' evolution. In: Scientific Insights into the Evolution of the Universe and of Life. Pontifical Academy of Science. 2009;20:530-6. Disponível em: http://www.vatican.va/roman_curia/pontifical_academies/acdscien/documents/newpdf/acta20.pdf

capítulo 8

Biossegurança em medicamentos, correlatos e cosméticos

Terezinha de Jesus Andreoli Pinto
Telma Mary Kaneko
Nádia Araci Bou-Chacra
Dirce Akamine

INTRODUÇÃO

Os riscos envolvidos na preparação de medicamentos, correlatos e cosméticos constituem tema de importância fundamental entre profissionais e pesquisadores preocupados em minimizar riscos decorrentes da manipulação de componentes de fórmulas farmacêuticas e cosméticas, reagentes e solventes. Potencialmente, quaisquer desses podem ocasionar danos aos profissionais expostos, em decorrência da toxicidade inerente, que por sua vez está relacionada à atividade específica e aos efeitos adversos, dependentes da concentração e do tempo de exposição.

Em função das distintas etapas e da complexidade envolvida na fabricação de medicamentos, correlatos e cosméticos, essa tarefa pode implicitar as situações de risco, descritas no Capítulo 1, às quais o profissional é exposto. Portanto, fatores como a organização de atividades e a biossegurança em laboratórios, descritas nos Capítulos 2 e 3, devem ser considerados no planejamento. A exposição a substâncias que apresentem potencial dano ao ser humano pode ocorrer em diversas escalas, seja na manipulação de fórmulas magistrais, em farmácias e hospitais; no fracionamento de matérias-primas em distribuidoras; ou na produção e no controle de qualidade de indústrias produtoras de medicamentos, correlatos e cosméticos. Sendo assim, a adoção das Boas Práticas de Fabricação constitui fator relevante e está regulamentada para cada atividade produtiva. Para medicamentos, a Resolução – RDC n. 17, de 16.04.2010 a 19.04.2010 – Seção 1, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos e internaliza a Resolução GMC n. 15/2009 – "Boas Práticas de Fabricação de Produtos Farmacêuticos e Mecanismo de Implementação no âmbito do Mercosul", que estabeleceu a adoção do Relatório n. 37 da OMS (WHO Technical Report Series 908), publicado em 2003. Em farmácias, as exigências de qualidade que contemplam os requisitos mínimos para manipulação, fracionamento, aditivação, conservação, transporte, dispensação de fórmulas magistrais e oficinais e de outros produtos de interesse da saúde estão regulamentadas na Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 214, de 12 de dezembro de 2006, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. Na área cosmética, o Regulamento Técnico, o Manual de Boas Práticas de Fabricação e o Controle de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes cumprem as diretrizes estabelecidas na Portaria n. 348, de 18.8.97.

Na situação específica de produção e controle, a avaliação dos riscos relativos à exposição de agentes com risco potencial deve ser considerada em todo o ciclo de fabricação. Assim, operações unitárias no transporte, no recebimento e na estocagem das matérias-primas, atribuídas a profissionais, não necessariamente farmacêuticos, constituem tarefas de elevado risco e, portanto, requerem a adoção de procedimentos específicos de segurança conforme indicado nos Capítulos 5 e 6. Etapas referentes à amostra para a execução dos ensaios de controle de qualidade, assim como à pesagem da matéria-prima para a fabricação do produto, são consideradas críticas. Tais etapas expõem diretamente o profissional à matéria-prima e, portanto, merecem atenção especial no que tange a procedimentos adequados para a prevenção de quaisquer prejuízos decorrentes da exposição.

Quanto à incorporação da matéria-prima ativa em veículo ou excipiente para manipulação e acondicionamento de medicamentos e cosméticos em formas líquidas e sólidas, as ações de segurança tem o objetivo de evitar a formação de suspensão de partículas sólidas no ar, no caso de pós, e de aerossóis, no caso de líquidos.

A exigência de esterilidade como característica de qualidade em função da via de administração de produtos parenterais e oftálmicos, assim como o emprego de diversos correlatos, apresenta particularidade no que se refere

aos procedimentos que visam a alcançar tal condição. Os processos requeridos são bastante complexos, podendo abranger diversas etapas e procedimentos. Por vezes envolvem a esterilização de componentes da formulação, de material de acondicionamento e do produto acabado.

O envase e/ou acondicionamento do produto pode ser efetuado em áreas controladas, cujas superfícies e ambientes são tratados com produtos de ação antimicrobiana. Os processos esterilizantes aplicados a componentes ou ao produto acabado empregam, dependendo da situação específica, calor seco, vapor, radiação ionizante ou óxido de etileno, que podem ocasionar riscos ao profissional. O óxido de etileno apresenta ampla aplicação em processos esterilizantes de produtos termossensíveis, inclusive com particular relevância ao considerar materiais incompatíveis com a radiação ionizante[1].

Entre esses produtos encontram-se os correlatos, fabricados em grande parte com materiais poliméricos, abrangendo tubo de transfusão intravenosa, tubo de circulação extracorpórea, tubo traqueal, cateteres, luvas cirúrgicas, cânulas e membranas para hemodiálise. Estes são constituídos de cloreto de polivinila (PVC), látex, politetrafluoretileno, polietileno, silicone e outros. Um fator relevante inerente ao processo refere-se à remoção, empregando recursos de aeração, do resíduo do gás adsorvido no material processado.

A exposição aos agentes de esterilização consiste em um fator de risco para o pessoal operacionalmente envolvido, assim como para os profissionais da garantia da qualidade que executam os ensaios para a validação desses processos. Em particular, o óxido de etileno remete à preocupação durante etapas da amostra para o controle de qualidade, bem como residuais, podendo ser detectado no laboratório de controle de qualidade durante procedimentos analíticos para a determinação da conformidade do produto.

Da mesma forma, em especial no setor de embalagem de produtos farmacêuticos e de moldagem de componentes de correlatos, os processos não totalmente automatizados podem ser considerados etapas de risco, no que diz respeito aos limites de tolerância para ruídos contínuos ou intermitentes (ver NR-15 da Portaria n. 3.214/78, MTA, nos Anexos 1 e 2, Capítulo 10).

Referindo-se a etapas de avaliação de qualidade em etapas intermediárias ou finais, o manuseio de substâncias ativas, cepas microbianas empregadas nos ensaios, células e animais de distintas linhagens, solventes e reagentes, deve ser efetuado de forma adequada, objetivando minimizar o risco para o analista e demais envolvidos. As etapas de finalização do ciclo produtivo, que abrangem quarentena, estocagem e expedição, também devem ter procedimentos específicos para a manipulação segura do produto. A quem aparente exagero termos mencionado a estocagem, pense, por exemplo, nos solventes voláteis e/ou inflamáveis.

No caso de substâncias de alta potência e/ou que apresentem efeitos colaterais intensos, o manuseio inadequado compromete a segurança dos profissionais envolvidos. A manipulação de drogas citotóxicas, agentes antineoplásicos e alguns outros agentes apresenta a possibilidade de efeitos nocivos como carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade. O manuseio de outros quimioterápicos, como os antibióticos, os antimicrobianos, os antissépticos e os desinfetantes, pode induzir à situação de resistência a determinados microrganismos patogênicos, além de outros diversos efeitos relacionados às classes. Deve-se destacar também, quanto ao aspecto de segurança, a manipulação de hormônios femininos, em particular, por operadores do sexo masculino e a manipulação de antibióticos.

Em 1985, a antiga Sociedade Americana de Farmacêuticos Hospitalares (ASHP – atual American Society of Health-System Pharmacists) elaborou um boletim técnico relativo aos aspectos de segurança da manipulação de drogas citotóxicas, que foi atualizado em 2006[2].

Tal boletim, em um primeiro momento, foi considerado adequado em substituição ao termo antineoplásico, aplicável a agentes empregados no tratamento de neoplasias, em função de sua maior abrangência. Agentes antineoplásicos não obrigatoriamente são citotóxicos e podem não pertencer apenas ao grupo de agentes destinados ao tratamento de câncer, estes descritos no Capítulo 9.

O termo citotóxico frequentemente se refere a qualquer agente genotóxico, oncogênico, mutagênico ou teratogênico. No início de 1986, o órgão governamental americano responsável pela saúde e segurança ocupacional, a Occupational Safety and Health Administration (OSHA), publicou recomendações para a manipulação segura de drogas citotóxicas destinada a profissionais da área de saúde. Mais tarde, em função do desenvolvimento de novas substâncias derivadas de processos biotecnológicos, assim como de agentes biológicos com característica genotóxica reconhecidamente perigosos, o termo citotóxico foi substituído por drogas de risco. A partir de 1990, as recomendações da OSHA abrangem outras drogas de risco e são apresentadas no Manual Técnico no capítulo de Controle de Exposição Ocupacional a Drogas de Risco. No site da OSHA (http://www.osha.gov/SLTC/hazardousdrugs/index.html) atualizado em 21.01.2011, há os padrões e as interpretações referentes à exposição de trabalhadores a drogas de risco.

Entre os assuntos pertinentes à segurança para a manipulação de drogas de risco, considera-se relevante conhecer os critérios para sua classificação, assim como evidências que encorajam seu gerenciamento, abordando aspectos relacionados a problemas decorrentes da exposição ocupacional. Além disso, a discussão de fatores como a adoção de instalações, dispositivos, equipamentos ou outros recursos adequados para o manuseio dessas drogas e o treinamento do elemento humano

potencialmente exposto constitui um tema preventivo eficaz que deve ser considerado com a finalidade de atingir uma condição segura de trabalho.

Outro aspecto importante refere-se à vigilância médica que, por meio de exames laboratoriais, indica com consistência se os procedimentos adotados foram adequados para prevenir os riscos decorrentes da exposição ocupacional. Nesse âmbito, a OSHA foi também a precursora na definição de limites e estratégias, abrangendo, entre outros segmentos, aquele da química de síntese, transformação e moldagem dos polímeros, compostos básicos dos correlatos. Exemplificando, riscos da exposição a gases geradores no processamento de PVC, compostos fluorados como o politetrafluoretileno (PTFE) e o teflon[3] e outros obrigam que as plantas atuais sejam providas de sistemas de exaustão eficazes, de forma que obedeça aos limites permissíveis.

CRITÉRIOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DE RISCO NA MANIPULAÇÃO DE MEDICAMENTOS, CORRELATOS E COSMÉTICOS

Um elevado número de substâncias ativas e procedimentos normalmente empregados na fabricação de medicamentos, correlatos e cosméticos pode apresentar risco ocupacional a operadores expostos de forma aguda ou crônica. No passado, a atenção dirigia-se sobretudo a fármacos utilizados no tratamento de câncer, entretanto muitos outros agentes apresentam toxicidade em sua manipulação. Os principais efeitos das drogas de risco incluem: genotoxicidade; carcinogenicidade; teratogenicidade ou alteração na fertilidade; manifestações tóxicas em baixas doses em animais de experimento ou em pacientes previamente tratados com a droga.

As drogas medicamentosas, segundo o National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH, 2010), consideradas como envolvendo risco pelo critério mencionado são: aldesleucina, alentuzumabe, alitretinoína, altretamina, amsacrina, anastrozol, asparaginase, azacitidina, azatioprina, Bacillus Calmette-Guerin (BCG)+, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomibe, bosentana, busulfano, capecitabina, carboplatina, carmustina, acetate de cetrorrelix, cidofovir, cladribina, clorambucil, cloranfenicol, clofarabina, colchicine, ciclosporina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, dasatinibe monoidratado, decitabina, dietilestibestrol, denileucina, dienestrol, dinoprostona, docetaxel, doxorrubicina, dutasterida, entecavir, epirrubicina, ergonovina/metilergonovina, estramustina, estradiol, estrógenos-progestina combinados, estrógenos conjugados, estrógenos esterificados, estrona, estropipato, etoposídeo, exemestano, finasterida, floxuridina, fludarabina, fluorouracil, fluoximesterona, flutamida, fulvestranto, ganciclovir, acetate de ganirrelix, gencitabine, gentuzumabe ozogamicina, gonadotropina coriônica alfa, gosserrelina, hidroxiureia, ibritumomabe tiuxetana, idarubicina, ifosfamida, imatinibe mesilato, interferon-a, irinotecano HCl, leflunomida, lenalidomida, letrozol, leuprolida acetato, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona acetato, megestrol, melfalana, menotropina, mercaptopurina, metotrexato, metiltestoterona, mifepristona, mitomicina, mitotano, micofenolato de mofetila, mitoxantrona HCl, nafarelina, nelarabina, nilutamida, oxaliplatina, oxitocina, paclitaxel, palifermina, paroxetina HCl, pegaspargase, pemetrexede, pentamidina isetionato, pentetato de cálcio trissódico, pentostatina, perfosfamida, pipobromana, piritrexim isetionato, podofilox, prednimustina, procarbazina, raloxifeno, raltitrexede, rasagilina mesilato, ribavirina, risperidona, sirolimo, sorafenib, estreptozotocina, sunitinib malato, tacrolimo, tamoxifeno, temozolomida, teniposídeo, testolactona, testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecana, toremifeno citrato, tositumomabe, tretinoína, trifluridina, trimetrexato glucuronato, triptorrelina, mostarda uracila, valganciclovir, valrubicina, vidarabina, vinblastina sulfato, vincristina sulfato, vindesina, vinorelbina tartarato, vorinostate, zidovudina e zonisamida.

A lista dessas substâncias (Quadro 1) foi compilada com o objetivo de determinar que drogas devem ser manuseadas empregando procedimentos especiais. Drogas sob investigação, como azacitidina, azacrina e tenipósido, não estão inclusas, porém têm de ser manipuladas como drogas de risco até que informações adequadas tornem-se disponíveis para excluí-las desse grupo[4].

Algumas das principais considerações para a inclusão da substância na lista das drogas de risco incluem a pesquisa das seguintes informações: indicação terapêutica da droga; orientações do fabricante quanto ao uso de técnicas de isolamento na sua manipulação, administração ou descarte; reconhecido efeito mutagênico, carcinogênico, teratogênico ou alterações na reprodução humana; reconhecidos estes mesmos efeitos em animais (drogas conhecidas como mutagênicas em sistema múltiplo bacteriano ou em animais também devem ser consideradas de risco); efeito tóxico agudo em algum órgão.

Não há nenhuma referência padronizada para essas informações. Tampouco há consenso para todos os agentes listados. A classificação de drogas de risco deve ser periodicamente revisada e atualizada em função de conhecimento técnico-científico consistente.

A definição de drogas de risco, baseada em estudos farmacológicos e toxicológicos, considera o histórico relativo a seus efeitos adversos. Drogas que apresentam longo histórico de segurança em humanos, mesmo após evidências de toxicidade *in vitro* ou em animais, podem ser excluídas da lista. Além disso, estrutura ou atividade relacionada com substâncias químicas similares àquelas das drogas de risco e dados *in vitro* podem ser utilizadas na determinação de efeito tóxico potencial.

Quadro 1. Carcinogenicidade de drogas de risco.

Drogas de risco	Classificação IARC*
Agentes alquilantes	
Bussulfano[ABC]	1
Carmustina[ABC]	2a
Clorambucil[ABCE]	1
Clorometina	2a
Clorometina N-óxido	2b
Clornafasina	1
Clorozotocina[E]	2a
Cisplatina[ABCE]	2a
Ciclofosfamida[ABCE]	1
Dacarbazina[ABC]	2b
Estreptozotocina[AC]	2b
Ifosfamida[ABC]	3
Lomustina[ABCD]	2a
Mecloretamina[BC]	–
Melfalano[ABCE]	1
Semustina	1
Tiotepa[ABC]	1
Treossulfano	1
Mostarda uracila[ACE]	–
Antibióticos	
Bleomicina[ABC]	–
Dactinomicina[ABC]	–
Daunorrubicina[ABC]	–
Doxorrubicina[ABCE]	–
Fluoruracil[ABC]	3
Mercaptopurina[ABC]	3
Metotrexato[ABC]	3
Mitramicina	–
Mitomicina[ABC]	–
Gerador de radical livre	
Azatioprina[ACE]	1
Inibidores mitóticos	
Vimblastina[ABC]	3
Vincristina	3
Misturas	
Asparaginase[ABC]	–
Procarbazina[ABCE]	2a
Drogas sob investigação	
Azacitidina	–
Azacrina	–
Tenipósido	–
Ifosfamida[ABC]	–
Mitoxantrona[ABC]	–

1: carcinogênico para humanos; 2a: provavelmente carcinogênico para humanos; 2b: possivelmente carcinogênico para humanos; 3: não classificado como carcinogênico para humanos. *IARC: International Agency for Research on Cancer. [A] The National Institutes of Health, Clinical Center Nursing Department. [B] Antineoplastic Drugs in the Physicians Desk Reference. [C] American Hospital Formulary, Antineoplastics. [D] Johns Hopkins Hospital. [E] International Agency for Research on Cancer.

No âmbito dos polímeros que envolvem os correlatos, estes são no geral inócuos. Entretanto, não se pode dizer o mesmo dos monômeros e oligômeros, ou ainda de alguns dos aditivos (plastificantes, antioxidantes, pigmentos, agentes de vulcanização) empregados na sua obtenção ou liberados no processamento dos plásticos e elastômeros. É preciso considerar ainda que, apesar do desenvolvimento de técnicas de fusão de polímeros por técnicas de ultrassom, continua frequente o emprego de solventes ou de adesivos nas operações de montagem. O próprio ultrassom, mais interessante sob o aspecto ocupacional, requer cuidados que impeçam, por exemplo, a proximidade de operários que utilizem lentes de contato e marca-passos, além da obrigatoriedade de protetores auriculares.

RISCO OCUPACIONAL QUE ENVOLVE A FABRICAÇÃO E O MANUSEIO DE MEDICAMENTOS, CORRELATOS E COSMÉTICOS

A preparação, a administração e o descarte de drogas de risco e demais substâncias ativas com efeitos adversos conhecidos, assim como de correlatos empregados na sua administração, podem expor farmacêuticos, químicos, enfermeiros e demais paramédicos a concentrações significantes dessas substâncias. O grau e o tempo de exposição durante a manipulação e a significância dos efeitos biológicos adversos são difíceis de avaliar e podem variar dependendo da situação de trabalho, dos recursos disponíveis e da característica de cada indivíduo. Como resultado, a determinação dos níveis seguros de exposição, tendo por base a literatura científica, constitui tarefa árdua.

O contato com drogas citotóxicas pode ocasionar grave injúria ao tecido, causando necrose na área exposta. A zidovudina demonstrou toxicidade em pele e mucosas[5], enquanto a solução de vimblastina apresentou toxicidade para a córnea[6]. Outros sintomas como dermatite de contato, irritação nas vias respiratórias, asma e broncoespasmos foram relatados por profissionais envolvidos na manipulação de pentamidina[3].

A maioria das drogas de risco, à semelhança dos monômeros e de outras substâncias consideradas de risco, liga-se diretamente ao material genético ou afeta a síntese de enzimas e proteínas celulares. Sabe-se que o crescimento e a reprodução de células normais são frequentemente afetados durante o tratamento quimioterápico, pois as drogas citotóxicas não fazem distinção entre células normais e cancerosas.

Os efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos de drogas de risco podem ser demonstrados em pesquisas pré-clínicas que empregam modelos experimentais animais. Agentes alquilantes como a ciclofosfamida e a mecloroetanamida apresentam forte evidência de carcinogenicidade. Entretanto, outras classes, como alguns antibióticos e agentes antivirais como a ribavi-

rina, têm adicionalmente ação teratogênica evidenciada em todas as espécies de roedores testados[7]. Julga-se prudente manipular as substâncias que apresentem carcinogenicidade em animais de forma similar às que são carcinogênicas em humanos[8].

As principais consequências da exposição ocupacional, além de efeitos citogenéticos, são as que envolvem alterações e anomalias na reprodução[9,10] e disfunções no aparelho respiratório[7] e em células hepáticas[11]. Efeitos adversos no aparelho reprodutor, incluindo permanente esterilidade, ocorreram em homens e mulheres submetidos a tratamento que empregava drogas citotóxicas isoladas ou em associação[12]. Anomalias congênitas e abortos espontâneos foram documentados em níveis estatisticamente significantes em trabalhadoras expostas a drogas citotóxicas[9]. Além disso, tais drogas podem ser transferidas ao lactente por meio da amamentação[13]. A destruição de células hepáticas, associada a sintomas de cefaleia, náusea e reações alérgicas, foi atribuída à exposição de trabalhador a agentes citotóxicos[3].

Aspectos toxicológicos relacionados aos polímeros empregados na fabricação de correlatos, em particular o monômero cloreto de vinila, foram inicialmente relatados na década de 1950. Constataram-se, nesse período, eritema intenso e queimadura de segundo grau na pele de operário após contato com o monômero[14]. Além disso, comprovaram-se em trabalhadores de fábrica de polimerização de cloreto de vinila problemas respiratório e hepático, além de entorpecimento e formigamento dos dedos e artelhos. Tal quadro foi acompanhado de cianose e exacerbação de sensibilidade ao frio[15].

A classe de hormônios como insulinas, agentes hipoglicemiantes orais, hormônios da tireoide, hormônios esteroidais, gonodais e outros manifesta efeitos adversos em sua dose terapêutica. A manipulação desses agentes apresenta oportunidade para exposição ocupacional aguda ou crônica, com sintomas específicos para cada agente. Alguns dos efeitos relatados referem-se a ação anestésica e acentuado relaxamento muscular, no caso de exposição à elevada concentração da progesterona, e efeito masculinizante do feto, no caso de exposição à norestisterona. Quanto aos androgênios, as reações adversas decorrentes da exposição crônica podem acarretar comprometimento da função hepática, aparecimento de icterícia e estase biliar. Na mulher podem ocasionar manifestações de menopausa precoce e osteoporose. Quanto aos corticosteroides, a exposição a esse hormônio pode conduzir a aumento do nitrogênio urinário e de aminoácidos com consequente balanço nitrogenado negativo, além de ação inibidora na formação de anticorpos e dificuldade de cicatrização[16].

Semelhante ao caso anterior, cada classe de antibióticos, além de promover resistência microbiana, apresenta reações adversas específicas. A exposição ocupacional a sulfonamidas pode ocasionar os seguintes efeitos: reações alérgicas, alterações nos componentes do sangue, deposição de cristais nas vias urinárias, mal-estar, prostração, irritabilidade, confusão, entre outros. O grupo dos penicilânicos, em especial a penicilina G, mostra baixo índice de absorção via oral por ser instável em meio ácido. Esses antibióticos, embora com menores efeitos adversos quando comparados a outros, provocam náuseas, diarreia e vômitos, além de hipersensibilidade, podendo a angiodema, a doença do soro e a anafilaxia estar associadas à sua exposição. O grupo dos cefalosporânicos apresenta reações adversas semelhante aos penicilânicos, além de terem sido responsabilizados por relatos de choque anafilático e nefrotoxicidade, particularmente no caso de cefaloridina[17].

A RDC n. 214, de 12 de dezembro de 2006, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias, classifica como Grupo III a manipulação de antibióticos, hormônios, citostáticos e substâncias sujeitas a controle especial, devendo as farmácias possuir salas de manipulação dedicadas.

Com relação aos conservantes empregados na produção de medicamentos e cosméticos, assim como o princípio ativo utilizado na produção de desinfetantes, cada substância apresenta toxicidade específica, impossibilitando generalizações.

Entre os agentes esterilizantes normalmente empregados na produção de medicamentos, correlatos e cosméticos, os que envolvem transferência térmica apresentam riscos relacionados a lesões provocadas por queimaduras e, no caso de utilização de caldeiras, a possibilidade de explosões. O detalhamento e a monitoração de tais riscos são descritos nas Normas Reguladoras de Segurança e Saúde no Trabalho (NR 13 a 18, Capítulo 10).

Para os processos que empregam óxido de etileno, os efeitos nocivos da exposição ocupacional a esse agente podem ser de natureza diversa, como irritação ocular, dérmica e respiratória, náuseas, vômitos, depressão do sistema nervoso central (SNC) e mesmo morte. Ressalte-se que a maior preocupação tem sido direcionada às suas propriedades mutagênicas, além de possivelmente carcinogênicas e teratogênicas[1]. Nesse caso, a regulamentação no âmbito nacional, Portaria Interministerial n. 482, de 19.3.99, refere-se às condições de engenharia que permitem a obtenção de níveis de resíduos ambientais compatíveis com a presença humana, minimizando riscos ocupacionais.

Embora a radiação ionizante não interfira no núcleo dos átomos a ela submetidos e, portanto, o produto submetido à radiação não adquira radioatividade, a fonte emissora apresenta propriedade radioativa e a central deve operar de acordo com as normas de segurança para produtos radioativos, conforme descrito no Capítulo 6.

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL NA MANIPULAÇÃO DE DROGAS DE RISCO

Para a avaliação do risco decorrente da exposição ocupacional de drogas utiliza-se monitoração ambiental com a finalidade de detectar possíveis resíduos prove-

nientes da preparação e/ou manipulação dessas substâncias no ar, nas superfícies e nas vestimentas. Com relação ao profissional potencialmente exposto, as monitorações biológicas e as análises dos fluidos biológicos, em particular no sangue e na urina, podem comprovar a efetiva absorção das drogas.

Os ensaios para a detecção das drogas de risco em quaisquer amostras, ambientes ou fluidos biológicos são normalmente classificados em dois grupos: seletivo e não seletivo[4]. No primeiro, a concentração de um composto específico ou seu metabólito é determinada, em geral, empregando-se análise química instrumental com sensibilidade adequada. Dessa forma, deve-se utilizar o método seletivo, validado para cada substância a ser analisada, que requer o conhecimento prévio das condições de exposição à qual o profissional foi submetido. Nos métodos não seletivos os, ensaios fundamentam-se na detecção de grupos químicos que apresentem comprovado efeito mutagênico ou propriedade eletrofílica.

Alguns grupamentos químicos são alquilantes típicos e expressam sua atividade citostática interagindo com os ácidos nucleicos, caracterizando ligações covalentes. Essa interação pode resultar na ocorrência de mutação em várias espécies bacterianas e em sistemas eucarióticos. O teste de Ames, desenvolvido para detectar grupos mutagênicos em amostra de urina de trabalhadores expostos à manipulação de drogas de risco, foi desenvolvido em 1975. Os efeitos mutagênicos normalmente observados são características de microrganismo (*Salmonella* spp.) que, na presença de compostos mutagênicos, passam a apresentar, exemplificativamente, perda da dependência de histidina[18]. Entretanto, a não detecção *in vitro* de efeito mutagênico não assegura sua ausência[19]. O ensaio pode ser considerado um teste preliminar, merecendo complementações com outros métodos. Além disso, outros fatores em adição à exposição a drogas citotóxicas, como a dieta[20], à exposição ambiental simultânea a outros agentes mutagênicos e ao hábito do tabagismo[21,22] causam variação nos níveis de mutagenicidade, sendo, portanto, questionável a simples correlação entre os níveis de exposição a drogas citotóxicas e o aumento significante do efeito mutagênico da urina. Tais interações podem explicar resultados aparentemente falsos negativos obtidos em estudos que empregam o teste de Ames. Com relação à influência do tabagismo, essa pode ser eliminada empregando-se cepa bacteriana sensível a drogas citostáticas, mas não a substâncias mutagênicas derivadas do fumo[4].

A mutagenicidade do cloreto de vinila ou de seus presumíveis metabólitos foi evidenciada em cepas de *Salmonella thyphimurium*, empregando fração de fígado de roedores, expostos ao agente. O cloroacetaldeído, um presumível metabólito, e o ácido cloroacético, metabólito urinário, mostraram alta toxicidade à bactéria e ação mutagênica direta[23]. Estudos adicionais comprovaram ação mutagênica em cepas de *Bacillus* ssp. e *Salmonella* ssp. após avaliação com o emprego de outros metabólitos, como clorooxirano, epicloridrina e cloroacetaldeído[24].

A determinação de tioéteres na urina, também considerado um método não seletivo, pode ser utilizada como indicador para exposição potencial a grupos eletrofílicos. Algumas drogas apresentam ou originam propriedades eletrofílicas, as quais podem resultar em reação com glutationa. Ácidos mercaptúricos ou tioéteres podem ser formados e excretados pela urina. Assim, a associação entre o aumento da excreção de tioéteres e a exposição a agentes alquilantes pode ser evidenciada[4]. Porém, de forma semelhante ao método anterior, a influência das substâncias decorrentes do hábito do tabagismo[25], presentes na urina, determina sua não seletividade. Isso significa que o método não é ideal para a monitoração biológica ocupacional de agentes citotóxicos.

Em função de fatores como alta reatividade química, complexo-padrão de biotransformação e expectativa de baixos níveis de exposição, considera-se razoável assumir que as drogas citotóxicas e seus metabólitos estarão presentes na urina e no sangue em baixas concentrações, sendo portanto necessários métodos altamente sensíveis e validados. Tais métodos, que utilizam análise química instrumental[26] além de imunológica, foram empregados em diversos trabalhos, comprovando ser adequados na determinação seletiva de drogas[27-32].

Evidências da absorção de ciclofosfamida e ifosfamida foram observadas na urina de trabalhadores envolvidos na preparação e administração de agentes citostáticos, empregando-se para tanto análise instrumental. Após tratamento com trifluoroacético anidrido, a ciclofosfamida foi determinada por cromatografia em fase gasosa utilizando detectores de nitrogênio-fósforo, de captura eletrônica e de massa seletivo ou por espectrofotometria de massa. As determinações que empregaram espectrofotometria de massa apresentaram alta especificidade e sensibilidade (0,25 ng/mg de urina)[31]. O método pode ser adotado para a detecção de ciclofosfamida e ifosfamida na urina de profissionais, como medida de eficácia do sistema de proteção e procedimentos de segurança.

Avaliações em amostras de urina com o uso de espectrofotômetro de absorção atômica como método de detecção revelou valores de cisplatina abaixo do limite de confiança em grupos de enfermeiros e farmacêuticos expostos à droga e em controles.

Com o objetivo de se avaliar a exposição de trabalhadores envolvidos na manipulação de drogas de risco em laboratório industrial, desenvolveu-se um método empregando imunoensaio com fluorescência polarizada[26] e cromatografia em fase gasosa[32], respectivamente para o metotrexato e fluorouracil. O ensaio para a determinação de metotrexato foi modificado de tal forma que a droga pudesse ser medida rápida e eficientemente na urina dos trabalhadores expostos. A razão de excre-

ção de metotrexato foi considerada alta para o grupo exposto, quando comparado ao grupo-controle[26].

Na busca de métodos seletivos, a cromatografia em fase gasosa com detector de massa foi empregada para a determinação de a-fluoro-b-alanina, o principal metabólito de fluorouracil na urina, detectado em amostras de urina de vários trabalhadores[32]. O método também pode ser empregado no controle da exposição ocupacional ao óxido de etileno. Para a detecção de concentração residual desse agente, foi utilizada cromatografia em fase gasosa em três diferentes métodos extrativos aplicados a dois tipos de material polimérico (PVC e polietileno de alta densidade), e concluiu-se serem todos adequados na detecção de valores da ordem de 2,8 a 42,3 mg/g[33].

A exposição ocupacional de drogas de risco decorrente da presença dessas substâncias no ar em concentrações entre 0,12 e 82,26 hg/m³ de fluorouracil foi detectada na monitorização do preparo da droga quando não foi empragada cabine de segurança biológica. Na monitorização da ciclofosfamida, em condições similares, foi revelada concentração de 370 hg/m³, comprovando a dispersão da droga no ambiente em decorrência do procedimento de manipulação adotado[30]. Em ambas as monitorizações, as análises foram efetuadas por cromatografia líquida de alta eficiência empregando fase móvel específica para cada substância.

A pertinência da preocupação inerente à exposição da pele a drogas citotóxicas foi confirmada em estudo que comprovou a presença dessas substâncias em superfície de trabalho utilizadas para a manipulação de agentes antineoplásicos e em áreas para tratamento de pacientes do setor oncológico[34]. O nível de exposição de trabalhadores de laboratório farmacêutico envolvidos na manipulação de fluorouracil foi estudado, avaliando-se o ar ambiental e superfícies. Detectou-se a presença de 75 µg/m³ do agente no ar. Quanto à superfície, em um momento anterior à manipulação, os índices encontrados no piso foram de < 1 a 8 µg/cm² e, após a rotina de limpeza, uma quantidade significativamente maior foi encontrada, de 70 a 630 µg/cm² [32]. Tais resultados indicam a necessidade de procedimentos validados para a remoção do agente. Ainda com relação ao fluorouracil, empregou-se cromatografia líquida de alta eficiência[29] na detecção de 0,2 ng/m³ de ar em farmácia hospitalar e até 0,07 µg/litro de ar amostrado após manipulação da droga, sendo a amostragem utilizada no interior de equipamento de fluxo de ar em regime unidirecional horizontal[27].

O procedimento empregado com o objetivo de determinar as drogas citotóxicas no ar tem sido efetuado a partir da filtração de amostras de ar ambiental, utilizando-se equipamento e membrana adequada submetida a processo de extração. Em alguns estudos utilizou-se para a amostra o mesmo equipamento para a contagem de microrganismos viáveis nas monitorizações da qualidade microbiológica do ar, após adaptação[27,29]. O procedimento permite a detecção de substâncias dispersas no ambiente no decorrer das etapas do processo de manipulação, produção, preparação e administração e durante o tratamento de animais de laboratório. De forma semelhante ao ar, monitorizações de superfícies podem ser efetuadas por meio de amostra e extração adequada das drogas contidas nos dispositivos empregados para a limpeza de piso, paredes e bancadas das cabines de segurança biológica das áreas de preparação. Além disso, luvas e outros dispositivos para proteção, frequentemente contaminados, podem ser analisados da mesma forma após a extração, empregando-se métodos seletivos ou não.

No que se refere aos métodos não seletivos, a absorção de agentes antineoplásicos decorrente de exposição ocupacional pode ser evidenciada efetuando-se análise que comprove efeito mutagênico da urina coletada dos profissionais envolvidos. Após interrupção do contato com esses agentes por período de 48 horas, o efeito mutagênico observado revelou queda a valores semelhantes aos dos indivíduos-controle, não expostos a quaisquer substâncias. Profissionais fumantes expostos a drogas de risco apresentaram maior efeito mutagênico, por ocasião da análise da urina, comparativamente a profissionais não fumantes expostos às mesmas condições[22].

A exposição ao óxido de etileno foi avaliada em trabalhadores submetidos a valores abaixo de 1 ppm, objetivando a observação de possíveis efeitos em baixa concentração[35]. A metodologia consistiu em determinar os valores de alquilação da hemoglobina e a frequência de trocas entre cromátides irmãs, em cultura de linfócitos periféricos e células bucais. Os autores concluíram que estudos citogenéticos não são úteis ou adequados para mostrar o efeito do baixo nível de exposição. Adicionalmente, um teste de alquilação de hemoglobina realizado em fumantes demonstrou não ser possível separar o efeito do tabagismo daquele decorrente de exposição a baixos níveis de óxido de etileno.

Os métodos citogenéticos, como a análise de aberrações cromossômicas, troca entre cromátides irmãs e proliferação micronucleica, aplicados a linfócitos do sangue periférico, além de métodos para detectar alterações no DNA, disfunção renal e efeitos no sangue são úteis para a monitorização dos efeitos biológicos e considerados não seletivos[4]. Sessink & Cerná et al.[36] avaliaram a correlação entre a exposição à ciclofosfamida e a presença de aberrações cromossômicas em linfócitos periféricos de indivíduos expostos fumantes e não fumantes. Os resultados demonstraram que os indivíduos fumantes apresentaram efeitos significativamente maiores quando comparados aos não fumantes. Uma vez que aberrações cromossômicas são consideradas indicadoras de maior risco genético, o experimento não só demonstrou a absorção da ciclofosfamida, como também indicou um sério risco, sobretudo para os fumantes. O tabagismo também foi considerado responsável pela grande quantidade de alterações celulares[37]. A avaliação de 97 trabalhadores expostos ocupacionalmente, envolvidos na esterilização de

correlatos por óxido de etileno, foi realizada em grupos distintos: fumantes e não fumantes. Concluiu-se que, para os fumantes, a extensão de danos ao DNA em células mononucleares periféricas sanguíneas foi relevante.

Dados obtidos em avaliações relativas à exposição de hormônios em elementos do sexo masculino resultaram na exigência de ensaios para a determinação de testosterona total ou plasmática livre, conforme o Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (NR 7, Capítulo 10). Ademais, outras monitorizações específicas devem ser realizadas de forma periódica, de acordo com o programa, para cada condição de exposição. Fundamentado nos riscos e avaliações da exposição ocupacional, a inalação de poeiras ou aerossóis, o contato direto com a pele e a ingestão acidental de drogas em alimentos contaminados constituem as principais vias de acesso ao contaminante. A exposição a drogas de risco pode também ocorrer em etapas, como transferência da droga para outro recipiente e reconstituição ou manipulação anterior à administração ao paciente. Tais situações induzem à preocupação quanto a procedimentos adequados na retirada de agulha dos frascos, ao uso de seringas e agulhas para transferência da droga e à abertura de ampolas e expulsão do ar das seringas que contêm a droga, como consequência da medição precisa de seu volume.

Instalações e sistemas de segurança

A produção de medicamentos estéreis requer procedimentos e condições diferenciadas, entre as quais as condições ambientais são as de maior relevância. Exigências particulares, de atendimento às Boas Práticas de Fabricação, implicam validações de processos e exigências quanto ao fluxograma, além de implementação de salas biolimpas, classificadas de acordo com as exigências dos procedimentos envolvidos na qualidade do produto. Esse conceito admite a adoção de postos de trabalhos, em que as condições ambientais adequadas podem ser alcançadas com equipamentos de fluxo de ar em regime unidirecional. Nesses, os procedimentos de manipulação de medicamentos estéreis têm a finalidade de protegê-los de eventuais contaminações advindas do operador e do ambiente. Esses equipamentos empregam filtros de alta eficiência (HEPA, *high efficiency particulate air*) com o objetivo de remover contaminantes e permitem a classificacão do ambiente fundamentada no número de partículas de tamanho 0,5 µm ou maiores, detectadas por volume de ar amostrado. Esses equipamentos apresentam normalmente classe M3,5 (Sistema Internacional: no máximo 3.520 partículas de tamanho 0,5 µm ou maiores por m^3) ou classe 100 [Sistema Inglês: no máximo cem partículas de tamanho 0,5 µm ou maiores por $(pés)^3$] (Federal Standard 209 E, 1992, cancelada em 29.11.2001)[38], ou, ainda, segundo classificação das normas ISO 14.644-1 IS0 classe 5 (no máximo 3.520 partículas de tamanho 0,5 µm ou maiores por m^3).

O fluxo de ar unidirecional poderá ser vertical ou horizontal dependendo da natureza dos trabalhos a serem realizados, porém não é considerado apropriado para a manipulação de drogas de risco, pois não promove proteção ao operador e permite que estas contaminem o ambiente. Quando a meta principal do trabalho consiste em proteger apenas o produto, respeitando aspectos de configuração e aerodinâmica, opta-se, no geral, por sistema de câmara com fluxo de ar em regime unidirecional horizontal. O deslocamento do ar segue da parte posterior do equipamento em direção à frontal. Portanto, quaisquer contaminações ou resíduos prejudiciais à saúde podem alcançar o operador. A proteção do produto e do elemento humano pode ser obtida com a utilização de equipamento com fluxo de ar em regime unidirecional vertical. O deslocamento do ar ocorre a partir da parte superior do equipamento em direção à inferior, na qual está posicionada a bancada de trabalho, porém o ar circulante é deslocado para o ambiente de trabalho sem qualquer tratamento.

A efetividade desses equipamentos na proteção de manipuladores de agentes antineoplásicos foi questionada no início da década de 1980. Nesse período, alguns trabalhos[27,39] demonstraram quantidades mensuráveis de fluorouracil e cefazolina no ar ambiental, logo após seu manuseio em cabine de fluxo de ar em regime unidirecional horizontal. Dessa forma, recomenda-se a utilização de cabines de segurança biológica, descrita no Capítulos 4, para a manipulação de drogas de risco. Tais equipamentos demonstraram maior eficiência na proteção dos operadores, tornando eficaz a proteção ambiental, visto que não se observa a presença de fluorouracil ou de outras substâncias no ar ambiental, no decorrer de sua manipulação.

Além disso, ensaios para a determinação de efeito mutagênico decorrente de produtos presentes na urina foram aplicados comparativamente a profissionais responsáveis pela preparação de agentes antineoplásicos, em cabine de fluxo de ar horizontal e em cabines de segurança biológica. Os resultados revelaram efeito mutagênico na urina dos profissionais quando utilizaram fluxo de ar horizontal, independentemente da utilização de luvas ou máscaras. Os resultados das análises de amostras de sangue e urina dos profissionais que empregam a cabine de segurança biológica foram semelhantes aos obtidos no grupo-controle, comprovando dessa forma a eficácia desse sistema[39].

A eficiência na proteção do operador fundamenta-se, entre outras importantes características, no deslocamento do ar partindo da parte superior para a inferior, não atingindo portanto o operador, assim como no recolhimento e tratamento do ar previamente à sua liberação ao ambiente. Adicionalmente, a substituição de cabines ou equipamento de fluxo de ar horizontal por cabine de segurança biológica não alterou significativamente a produtividade do operador em estudos

que empregam preparações de antibióticos[40]. Comparações relativas ao tempo de preparação de antibióticos injetáveis em seringas e outros dispositivos que usam ambos os equipamentos revelaram tempos semelhantes, ou sem diferenças significativas, justificando dessa forma a aquisição da cabine de segurança biológica.

As cabines de segurança biológica são apresentadas em três classes (I, II e III), também descrita no Capítulo 4. A classe I é indicada para trabalhos de baixo a moderado risco biológico. O fluxo de ar interior protege o manipulador e o produto, podendo a exaustão para a área externa ser efetuada após filtração absoluta ou não. A classe III refere-se a equipamento totalmente fechado, com ventilação que emprega ar comprimido. As operações nesse equipamento são realizadas com luvas de borracha fixas. A cabine é mantida sob pressão negativa, e a injeção do ar na cabine é feita com filtros HEPA. O ar de exaustão é tratado por dupla filtragem em filtros HEPA. Esse sistema é indicado para operações biológicas que envolvam riscos elevados. Embora não haja equipamentos específicos para a manipulação de drogas estéreis de risco, recomenda-se o uso de cabine de segurança biológica classe II ou III para sua manipulação. Tais equipamentos oferecem proteção ao produto, ao operador e ao ambiente de trabalho e devem obedecer à norma construtiva NFS 49[8,41,42].

As cabines de segurança biológica são empregadas, normalmente, na manipulação de agentes infectantes, e apresentam limitações para o uso na manipulação de drogas de risco. Tais equipamentos também são indicados quando baixas quantidades de produtos tóxicos ou radiofármacos (Capítulos 5 e 6) são empregadas em estudos biológicos ou farmacêuticos. As cabines de segurança biológica classe II são classificadas em quatro tipos: A, B1, B2 e B3, dependendo:

a. da quantidade de ar recirculado pelo filtro HEPA no interior da cabine;
b. da ventilação do ar para o laboratório ou para uma área externa;
c. da pressurização dos dutos de contaminação, submetidos à pressão positiva ou negativa em relação ao laboratório[43].

O tipo A recircula aproximadamente 70% do ar da cabine pelo filtro HEPA, sendo o restante descartado para o laboratório por outro filtro HEPA, com os dutos de condução do ar contaminado submetidos à pressão positiva (Figura 1). A velocidade de entrada do fluxo de ar no equipamento por meio da abertura frontal e fixa, normalmente designada como velocidade de face média mínima, para as cabines tipo A é de 0,40 m/s.

Para as cabines tipo B, a velocidade de face média é de 0,50 m/s e os dutos de condução de ar contaminado devem apresentar pressão negativa em relação ao laboratório[44]. O tipo B1, além de apresentar maior velocidade do fluxo de ar, recircula apenas 30% do ar interior da cabine. A exaustão é conduzida para uma área externa após filtração pelo filtro HEPA, e os dutos de condução do ar contaminado são submetidos, assim como os tipos B2 e B3, à pressão negativa.

O tipo B2 é semelhante ao B1, exceto pela ausência total de ar recirculado, ou seja, a renovação projetada do ar é de 100% (Figura 1). O tipo B3 é similar ao tipo A quanto à recirculação do ar, ou seja, em índice de 70% (Figura 1). Entretanto, a exaustão é conduzida para uma área externa, enquanto os dutos são submetidos à pressão negativa.

O critério de seleção do tipo da cabine classe II deve incluir a característica e a quantidade de droga preparada, a localização e o espaço disponível e a disponibilidade de estrutura para canalização do ar contaminado, além do custo da cabine e do sistema de ventilação[8]. Segundo a OSHA (1986) e Zimmerman et al.[43], a recomendação mínima é classe II tipo A (Figura 1), que pode ser convertida ao tipo B3 (Figura 1) (maior velocidade do fluxo interno de ar, dutos contaminados sob pressão negativa e exaustão para ambiente externo). Tal conversão é considerada um investimento prudente[8]. Recentemente, a OSHA apresentou maior exigência com relação ao tipo de cabine de segurança biológica, recomendando classe II, tipo B, ou classe III, ambos com exaustão externa. No que se refere às exigências legais, a adoção de cabine de segurança biológica classe II B2 (Figura 1) foi regulamentada pela Portaria n. 3.535 de 2.9.98, que estabelece critérios para o cadastramento de centros de atendimento em Oncologia.

Não foram encontrados estudos que demonstrem maior eficácia de proteção com a utilização de filtro de carvão ativo na retenção de drogas de risco em substituição ao filtro de exaustão HEPA, instalado na cabine de segurança tipo A. A utilização de cabine de segurança biológica do tipo B oferece maior proteção ao manipulador quando comparada ao tipo A, em função da maior velocidade do fluxo de ar interno e da exigência da exaustão externa do ar contaminado. Os tipos B1 (exaustão de 70% do ar contaminado após filtração empregando-se filtro HEPA) e B2 (exaustão de 100% do ar contaminado após filtração empregando-se filtro HEPA) requerem dutos para exaustão com ventiladores auxiliares. Todos os dutos de exaustão para uma área externa (atmosfera) devem ser instalados de acordo com as exigências legais. A exaustão que utiliza espaços mortos no teto não é considerada apropriada. Tal procedimento pode contaminar os sistemas de ventilação promovendo contaminação de outro ambiente e ocasionando potencial risco a pessoas não diretamente envolvidas com a manipulação de drogas de risco. Na seleção de qualquer cabine de segurança biológica, a altura da sala precisa ser considerada. Vários desses equipamentos apresentam em sua configuração o filtro HEPA na parte superior (*top-load*). O problema é que, em salas de trabalho com altura padrão, os filtros

não podem ser acessados com facilidade, dificultando dessa forma sua qualificação e a certificação do ambiente[8].

Além da adequada seleção do equipamento, o usuário deve ser treinado para garantir uma proteção efetiva. Todas as cabines de segurança biológica classe II apresentam frente aberta com fluxo de ar interior, formando barreira ou cortina para proteger o operador e o meio ambiente de contaminantes. Assim, interferências na barreira de ar provocadas pelo usuário podem conduzir à liberação de contaminantes para o ambiente. Exemplos de interferência consistem na movimentação inadequada do braço do operador em sentido diagonal ou quaisquer turbulências na região limite da barreira de ar. A localização do equipamento também tem de ser considerada, uma vez que a eficiência da proteção pode ser alterada pela proximidade com equipamento de fluxo de ar em regime horizontal, ventiladores, portas, sistemas de ar condicionado etc. Assim, o local de instalação do equipamento deve ser isolado de outras áreas de trabalho e de áreas com tráfico intenso, bem como manter-se distante de dutos de ventilação e de portas, ou seja, em área com mínima turbulência.

As dimensões também podem influenciar consideravelmente sua eficiência, podendo ocasionar movimentação inadequada do operador e interferências externas; nesses casos, os riscos de contaminação ambiental são consideravelmente maiores. O ventilador da cabine de segurança biológica deve estar sempre ligado, exceto quando a cabine estiver sendo reparada ou deslocada. Caso o ventilador seja desligado, a cabine terá de ser descontaminada antes do seu uso[45]. Cada cabine de segurança biológica deve ser provida de equipamentos para monitoração contínua, permitindo a confirmação de sua adequada eficiência. Esses equipamentos, por sua vez, têm de conter dispositivos de sinalização sonora e visual que evidenciem defeitos dos ventiladores e saturação dos filtros absolutos[8].

Todas as cabines de segurança biológica devem ser testadas quanto à integridade do filtro HEPA, velocidade, vazão e uniformidade do fluxo de ar, que devem seguir a especificação do fabricante. Portanto, a eficiência da cabine de segurança biológica depende de sua qualificação inicial e de procedimentos que visem a assegurar seu adequado funcionamento. Para tal condição, executam-se ensaios periódicos, de preferência a cada seis meses ou após qualquer mudança de sua localização, e serviços de manutenção para comprovar seu bom funcionamento. A verificação, para avaliar a conformidade, deve ser realizada medindo-se a concentração de partículas durante o processo.

Além da certificação da cabine de segurança e do uso correto de equipamentos de segurança individual, o manipulador deverá ser adequadamente treinado para execução das atividades[41]. Dessa forma, torna-se imprescindível que o responsável pela área de preparação ou manuseio de drogas ou substâncias de risco conheça as exigências para a qualificação de seus equipamentos e os procedimentos que devem ser realizados para alcançar a condição adequada de trabalho.

A limpeza e a desinfecção da cabine de segurança biológica têm de ser efetuadas periodicamente ou sempre que ocorrer qualquer derramamento ou ainda

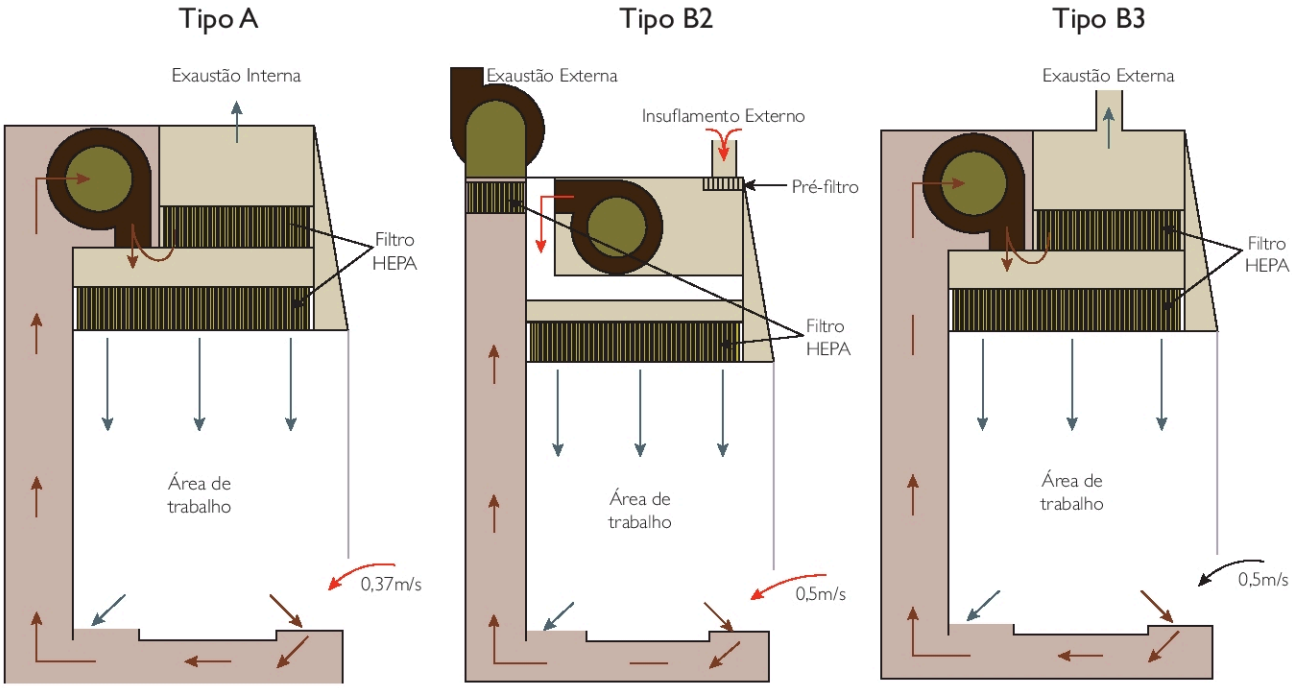


Figura 1. Fluxo de ar em cabine de segurança biológica classe II tipo A, tipo B2 e tipo B3.

quando a cabine for deslocada, após manutenção preventiva ou corretiva ou qualificação, com a finalidade de assegurar um ambiente apropriado para a preparação em pauta. Para rotinas de limpeza de superfícies entre as descontaminações pode-se utilizar água para injeção, com ou sem tensoativos. O uso de detergente é recomendado pelo fato de não haver um único método para a inativação de todos os agentes envolvidos. Se o contaminante for solúvel em álcool, álcool isopropílico ou etanol a 70% (v/v), pode ser utilizado em adição ao tensoativo. O álcool apresenta propriedade desinfetante, porém seu emprego precisa ser limitado[8]. Uma vez que esse solvente não apresenta características adequadas para emprego como agente de limpeza, seu uso excessivo deve ser evitado sobretudo nas cabines de segurança biológica, nas quais é prevista a recirculação de ar (classe II, tipo A, B3 e, em menor extensão, B1). Restringe-se também o emprego de agentes de limpeza à base de amônio quaternário, em função da formação de vapores que podem causar danos ao filtro HEPA. Recipientes vaporizadores também não devem ser utilizados por causarem provável dano aos filtros HEPA.

Procedimentos comuns, incluindo fumigação com agentes germicidas, são impróprios para as cabines de segurança biológica empregadas para a manipulação de drogas de risco, pois esses procedimentos não removem ou inativam tais drogas. A limpeza e a desinfecção devem ser realizadas a partir da área com menor contaminação em direção à de maior contaminação, com movimentos unidirecionais. A remoção de derramamentos facilmente observados deve ser executada pelo menos duas vezes. Todo material empregado na descontaminação tem de ser manipulado como material de risco e descartado de acordo com a legislação. Tal procedimento inclui os filtros HEPA quando substituídos em função de contaminação provocada por derramamento acidental de drogas de risco, ou quando se detecta falta de conformidade da velocidade do ar. O filtro deverá ser acondicionado em dispositivo plástico e descartado considerando as mesmas exigências requeridas para drogas de risco. Quando desligada ou transportada, a cabine de segurança biológica deve ser selada, empregando-se material polimérico de densidade adequada[8,46]. A automação robótica é o mais novo avanço tecnológico na manipulação de medicamentos estéreis de risco e sem risco. São adequados para farmácias hospitalares na reconstituição de medicamentos em seringas e bolsas. O uso desses equipamentos robóticos reduzem a exposição ocupacional dos manipuladores, além de elevar o grau de precisão por causa de sua mecânica sofisticada e software. A unidade de preparação do robô é ambiente ISO classe 5.

Apesar de se tratar de uma nova tecnologia, esses robôs também não são perfeitos. A contaminação pode ser gerada no ambiente de manipulação e transferida ao produto final. Vale lembrar que deve ser efetuada a limpeza e a descontaminação de resíduos de riscos (http://www.pharmacypracticenews.com/download/Safe_handling_ppn0311_WM.pdf)

O uso de isoladores em reconstituição de drogas é de uso corrente na Europa, enquanto nos Estados Unidos seu uso é mais recente.

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Com relação aos equipamentos de proteção individual, descritos no Capítulo 3, demonstrou-se que a espessura das luvas empregadas na manipulação de drogas de risco é um fator de extrema importância, em detrimento da natureza do material. A permeabilidade de luvas de cloreto de polivinila diante de diversas drogas, entre elas carmustina, cisplatina, ifosfamida, dacarbazina e fluorouracil, foi maior quando comparada às luvas cirúrgicas de látex[47]. Portanto, a utilização destas é recomendada, exceto quando o fabricante da droga indique, com respaldo técnico, de forma distinta.

Em decorrência da variação na permeabilidade das luvas em alguma extensão, e em função do tempo de exposição, recomenda-se a utilização de dois pares superpostos. Além disso, deve haver instruções quanto ao período de troca da luva (a cada hora), após ruptura ou por contaminação proveniente de derramamento, para a adequada proteção do operador. As luvas de látex devem apresentar especificações quanto à espessura e ao comprimento, para cobrir o punho do avental do manipulador, e à quantidade mínima de talco (caso possa ser usado), em função da possibilidade de adsorção das drogas no material pulverizado[48]. Além disso, o talco pode aumentar a quantidade de partículas na cabine de segurança biológica e permitir resíduos na superfície de materiais, no produto acabado e nas mãos, que podem adsorver as contaminações geradas no interior da cabine. As mãos devem ter passado por antissepsia antes de calçar as luvas e após sua remoção. Na utilização de luvas superpostas, a segunda deverá ser posicionada acima do punho. Quanto à remoção das luvas, as posicionadas abaixo do punho terão de ser retiradas por último. Os aventais devem ser de material impermeável, com a parte frontal fechada, mangas longas e punhos com elástico ou ajustes. Tanto os aventais quanto as luvas empregados para a manipulação de drogas de risco devem ser utilizados exclusivamente na área de trabalho[8].

Dessa forma, como no caso anterior, não há um material ideal para a confecção de aventais. Alguns estudos demonstram que Tyvec® e Kaycel® apresentam maior permeabilidade quando comparados ao Saranex-laminado Tyvek® e Tyvek®, revestido de polietileno (resultado obtido após quatro horas de exposição a drogas citotóxicas)[47]. Quando se trabalha em sala limpa, Tyvek® não é adequado, pois libera partículas. Entretanto, esse revestimento proporciona uma reduzida troca de ar, ocasionando desconforto para o usuário. Assim, a utilização de aventais com Saranex®, ou polietileno com a frente e

as mangas reforçadas, de forma que proteja as áreas mais expostas, pode ser considerada adequada.

Máscaras respiratórias, com filtro de alta eficiência, devem ser utilizadas na remoção de derramamentos acidentais (OSHA, 1986). Óculos de proteção também são recomendados, e um dispositivo para a lavagem de olhos deve ser disponibilizado. As luvas, os aventais e os demais materiais descartáveis têm de ser removidos, de acordo com procedimentos específicos. Óculos de proteção, protetor de face e respiradores podem ser descontaminados com detergente neutro e enxaguados para reutilização[8].

Portanto, um planejamento que abranja a segurança na manipulação de drogas de risco, assim como a monitorização da saúde dos profissionais expostos, deve ser desenvolvido, incluindo as seguintes implementações: procedimentos operacionais padrão relativos à segurança, a serem seguidos no caso de exposição consumada a drogas de risco; seleção dos critérios para determinação e implementação de controles, para a redução de exposição a drogas de risco, incluindo dispositivos para monitorização ambiental, uso de equipamento de proteção individual e práticas de higiene; exigência quanto ao sistema de ventilação e outros equipamentos para proteção do manipulador; adoção de medidas específicas para assegurar o adequado funcionamento do equipamento; disponibilização de informações relevantes e treinamento; exames médicos periódicos em profissionais potencialmente expostos a drogas de risco; designação de profissional responsável para implementação do planejamento e, quando apropriado, implantação de comissão permanente para avaliações pertinentes ao assunto. Os procedimentos devem ser revisados e sua eficácia reavaliada, objetivando melhorias, com frequência no mínimo anual e sempre que necessário.

Descarte

Materiais utilizados na manipulação e no controle de medicamentos, correlatos e cosméticos devem ser descartados segundo as orientações descritas no Capítulo 6, em particular as drogas de risco. Luvas, vestimentas, seringas e recipientes empregados na sua preparação também devem ser descartados em dispositivos identificados e lacrados de maneira apropriada, para que sejam manipulados apenas por pessoal devidamente treinado com o uso de equipamento de proteção individual, de acordo com o Capítulo 3.

Assim, o material utilizado para a confecção do dispositivo para descarte de resíduo de drogas de risco deve ser de alta densidade e à prova de vazamentos, com coloração distinta dos demais dispositivos para lixo hospitalar, e ser utilizado na rotina de acumulação e coleta de materiais usados, luva para descarte, aventais descartáveis ou qualquer outro material descartável. Dispositivos com produtos químicos considerados tóxicos precisam ser rotulados de acordo com a legislação vigente, indicando no rótulo seu conteúdo. As seringas, as agulhas e os fragmentos de vidros não contaminados com sangue ou materiais potencialmente infecciosos podem ser transferidos para um receptáculo apropriado antes de ser estocados em um dispositivo exclusivo para resíduos de drogas de risco. Tal acondicionamento deve ser mantido dentro de um suporte (recipiente) com tampa e claramente identificado como "Descarte Exclusivo para Drogas de Risco". Pelo menos um recipiente tem de ser mantido nas áreas de preparação ou administração das drogas de risco, em local determinado. O acondicionamento interno, quando alcançar o volume adequado para descarte, deve ser selado e transferido para um contêiner externo, em área adequada, e transportado por pessoal treinado e paramentado.

O descarte de resíduos das drogas de risco, assim como dos demais resíduos hospitalares, deve ser realizado obedecendo à legislação federal, estadual ou municipal, descritas no Capítulo 16. Informações adicionais da Environmental Protection Agency (EPA) regulamentam o descarte das seguintes drogas de risco como geradores de resíduos perigosos: clorambucil, ciclofosfamida, daunomicina, melfalano, mitomicina C, estreptozotocina e mostarda uracila[49]. Porém, de forma prudente, toda a categoria dos agentes antineoplásicos deve ser manuseada como geradores de resíduo tóxico, de forma que evite a exposição humana e ambiental a ela. Os procedimentos adequados para lidar com o descarte de agentes potencialmente tóxicos, como a incineração e os aterros, ainda não foram muito estudados.

O desenvolvimento de uma estratégia para o descarte desses agentes que apresente a devida exiguidade, legalidade e segurança constitui um desafio que pode ser alcançado, pelo menos em parte, com as seguintes recomendações, segundo a OSHA:

1. Identificar o tipo e o volume do resíduo gerado.
2. Contatar o órgão oficial responsável pelo meio ambiente ou o órgão de segurança e informá-lo sobre a geração de um resíduo tóxico.
3. Comunicar outras instituições e questioná-las quanto aos procedimentos usados para o descarte do resíduo.
4. Contatar as autoridades locais e estaduais para a adequação às exigências e para a obtenção dos nomes dos manipuladores licenciados, dos transportadores e dos receptores dos resíduos.
5. Avaliar a exequibilidade das várias opções de descarte.

Algumas das opções empregadas incluem o descarte do resíduo diretamente na rede sanitária. Tal opção, simples e exequível, apresenta restrições. O impacto dessas substâncias no ambiente, por exemplo, não é totalmente conhecido e, em consequência, deve ser considerado inaceitável, uma vez que abrange um problema de saúde pública e considerações legais, incluindo as que afetam o

meio ambiente. Além disso, tal procedimento perpetua o mau hábito de derramar substâncias químicas de forma irrestrita na rede sanitária. O descarte de material tóxico em aterro sanitário pode expor seres humanos e animais a contaminações. Ademais, tais resíduos não são aceitos pelos aterros oficiais e por comunidades locais. Portanto, não é desejável pelos mesmos motivos já descritos, ou seja, em decorrência do desconhecimento dos impactos de tal procedimento no meio ambiente.

Ao considerar as condições adotadas pela unidade que se propõe a efetuar o descarte internamente, seja ela uma indústria, uma clínica, um hospital ou uma farmácia, é preciso ponderar a necessidade de procedimentos descritos que assegurem a eficácia do processo de inativação e assegurem que os produtos derivados não apresentem riscos elevados, além de atender ao requisito legal para exercer a atividade[50]. O processo de inativação interna à unidade também requer providências relativas à segurança do profissional envolvido na condução dos procedimentos de descarte. A situação que pode resultar dessa opção refere-se à possibilidade de que venha a gerar maior volume de resíduos do que o inicial.

A incineração consiste em um recurso interessante, porém requer a aquisição de informações relativas à combustão das substâncias submetidas ao processo, assim como considerações que incluam soluções com referência aos gases e aos odores originados. O tratamento térmico normalmente permite a completa degradação da substância, além da redução do volume do material, porém estudos complementares são necessários para determinar a toxicidade e a mutagenicidade dos produtos de decomposição originados. No caso de incineradores específicos para resíduos perigosos, em local apropriado e externo à unidade, o volume a ser incinerado pode não sofrer restrições. Contudo, uma triagem rigorosa deve ser realizada com o objetivo de assegurar a ausência de riscos intrínsecos. Essa opção pode apresentar custo elevado, podendo ser considerado fator limitante.

Outra opção refere-se à simples estocagem do material de descarte, mas o acúmulo de substâncias tóxicas oferece risco elevado. Tal opção é exequível, porém não é desejável, uma vez que simplesmente adia a solução final. A alternativa permitida pela EPA refere-se à instalação de aterro químico de segurança em local interno nas instalações consideradas. Como se trata de estocagem no interior da terra, a destruição desses materiais pelo meio ambiente é desconhecida, porém pode ser adequada para quantidades pequenas a moderadas de resíduos. O impacto dessa opção em resíduos químicos que formam vapor é mínimo[49].

Quanto ao processo esterilizante, o óxido de etileno puro ou na forma de misturas pode ser convertido a etilenoglicol por meio de hidrólise. A razão da hidrólise é acelerada em condições de acidez ou alcalinidade. Em geral, a hidrólise é efetuada em condição de extrema acidez, com o intuito de obter conversões eficientes[51]. Outra questão relativa às misturas esterilizantes refere-se às que contêm clorofluorcabono 12 (CFC). Tais compostos foram associados à depleção da camada de ozônio e, portanto, foi sugerida sua substituição por gases que apresentem características melhores com relação a esse aspecto[52]. As demais substâncias, empregadas na manipulação e no controle de medicamentos, correlatos e cosméticos, devem ser descartadas segundo as recomendações descritas no Capítulo 6.

INATIVAÇÃO QUÍMICA DE DROGAS DE RISCO

Embora o mecanismo de remoção rápida e eficiente de resíduos consista na limpeza do derramamento, sua inativação química também precisa ser considerada, devendo-se respeitar nessa tarefa informações técnicas específicas conforme as fornecidas no Quadro 2. Agentes como idarubicina, doxorrubicina, epirubicina, pirarubicina, aclarubicina, daunorrubicina e substâncias antraciclicas podem ser inativadas empregando-se soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% (p/v), peróxido de hidrogênio a 30% ou solução de cloreto ferroso dihidratado 0,3 g em 10 mL de peróxido de hidrogênio a 30%. A eficiência desses procedimentos foi comprovada empregando cromatografia líquida de alta eficiência, para a caracterização da degradação química, e o teste de Ames, para a avaliação do efeito mutagênico das substâncias submetidas à oxidação. As preparações utilizadas nas avaliações foram aquelas com maior concentração de uso e em solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) ou dextrose a 5% (p/v)[50]. O intervalo de tempo necessário para a inativação (v/v), por oxidação, de cada um dos inativantes foi no mínimo de uma hora. A completa degradação em resíduos não mutagênicos para todos os compostos testados foi observada após uma hora com o hipoclorito de sódio a 5,25% (p/v).

Outra técnica, igualmente validada, para a descontaminação e destruição de doxorrubicina e daunorrubicina consiste em utilizar solução de permanganato de potássio a 0,3 M em ácido sulfúrico 3 M[53]. Comparando-se os diferentes agentes inativantes que evidenciam eficácia, o hipoclorito de sódio apresenta vantagens relacionadas a seu custo e praticidade, embora a solução de permanganato de sódio também seja recomendada pelo fabricante. Este último apresenta como principal desvantagem a característica de tingir objetos e superfícies na cor púrpura amarronzada[54]. Soluções de ácido sulfúrico e fosfato trissódico a 10% também são utilizadas, respectivamente, para a dacarbazina e plicamicina.

Nenhuma indicação define a quantidade necessária de agente neutralizante a ser utilizado em derramamentos. Excetuando-se os procedimentos específicos como o caso da daunorrubicina, que deverá ser neutralizada com quantidade suficiente de inativante (Quadro 2) para o total desaparecimento da cor da substância,

não há qualquer referência oficial quanto ao volume a ser empregado. Normalmente utiliza-se a razão 1:1, embora o emprego de ativo em proporção maior seja recomendado no caso de derramamentos de elevados volumes ou de soluções concentradas[54].

O Quadro 2 indica as informações gerais para o manuseio e descarte de Drogas de Risco.

REMOÇÃO DE DERRAMAMENTOS ACIDENTAIS DE DROGAS DE RISCO

Derramamentos ou liberações inadvertidas de drogas de risco podem expor o elemento humano a elevadas concentrações de substâncias com elevado risco intrínseco. Dessa forma, todos devem estar adequadamente treinados e equipados para executar os procedimentos adotados com o objetivo de minimizar as exposições decorrentes de tal situação.

A eventual contaminação dos equipamentos de proteção individual, assim como diretamente da pele ou olhos, causa preocupação com o elemento humano envolvido. Nesse caso, os seguintes procedimentos gerais, segundo as normas da OSHA, devem ser seguidos:

1. Remover imediatamente as luvas e vestimentas.
2. Lavar imediatamente a área contaminada com sabão e água.
3. Imergir o olho contaminado em um lavador de olhos com água ou solução isotônica por um período não inferior a 15 minutos.

Quadro 2. Informações gerais para manuseio e descarte de drogas de risco.

Drogas de risco	Características
Asparaginase	Solúvel em água, praticamente insolúvel em metanol, clorofórmio e acetona.
Carmustina	p.f. 30-32°C; pó e líquido são estáveis; maior estabilidade em éter de petróleo e em solução aquosa em pH 4; DL 50 (mg/kg): 19-25 oral[1]; 26 i.p.[1]; 24 s.c.[1]; 30-34 oral[2]; lipossolúvel, solubilidade em água: 4 mg/mL, solubilidade em etanol a 50%: 150 mg/mL.
Cisplatina	DL 50 (mg/kg): 9,7 i.p.[3] solubilidade em água: 0,253 g/100 g a 25°C; insolúvel na maioria dos solventes.
Clorambucil	p.f. 64-66°C; DL 50(m mole/kg): 58,2 i.p.[2]; solúvel em éter, em 1,5 parte de álcool, em 2,5 partes de clorofórmio e em 2 partes de acetona; praticamente insolúvel em água.
Dacarbazina	p.f. 205°C; estável em pH neutro e ausência de luz. Inativante: ácido sulfúrico (A).
Dactinomicina	Soluções diluídas são muito sensíveis à luz; DL 50 (mg/kg): 13,0 oral[1], 7,2 oral[2]; solúvel em álcool e propilenoglicol. Inativante: fosfato trissódico a 5% (p/v).
Daunorrubicina	Coloração em soluções aquosas altera de rosa em pH ácido para azul em pH alcalino; DL 50 (mg/kg): 26 i.v.[1]; solúvel em água, metanol; praticamente insolúvel em clorofórmio, éter e benzeno. Inativante: hipoclorito de sódio a 5% (p/v) (B).
Doxorrubicina	p.f. 204-205°C; alteração de cor em função do pH*, DL 50 (mg/kg): 21,1 i.v.[1]; solúvel em água e metanol; praticamente insolúvel em acetona, benzeno e clorofórmio. Inativante: hipoclorito de sódio a 5% (p/v).
Lomustina	p.f. 90°C; DL 50 (mg/kg): 51 oral[4], 56 i.p.[4], 61 s.c.[4]; solúvel em clorofórmio, etanol e acetona; solubilidade em água, NaOH 0,1N, HCl 0,1N ou etanol a 10%: < 0,05 mg/mL.
Mecloretamina	p.f. 109-111°C; DL 50 (mg/kg) 1,1 i.v.[2]; 1,9 s.c.[2]; altamente solúvel em água, solúvel em álcool. Inativante: tiossulfato de sódio ou bicarbonato de sódio a 5% (p/v) (C).
Metotrexato	Decompõe-se em solução alcalina; DL 50 (mg/kg): 14 i.v.[2].
Mitomicina C	DL 50 (mg/kg): 5 i.v.[2]; solúvel em água, metanol e ciclohexano, levemente solúvel em benzeno e tetracloreto de carbono; praticamente insolúvel em éter de petróleo. Inativante: hipoclorito de sódio a 5% (p/v)ou permanganato de potássio a 1% (p/v).
Plicamicina	p.f. 180-183°C; DL 50 (mg/kg): 2,14 i.v.[1]; 1,74 i.v.[2]; solúvel em acetona, etil acetato e água, moderadamente solúvel em clorofórmio e levemente solúvel em éter e benzeno. Inativante: fosfato trissódico a 10% (p/v) (A).
Procarbazina	p.f. 223-226°C; DL 50 785 ± 34 mg/kg oral[2].
Vinblastina	p.f. 211-216°C; DL 50 (mg/kg): 9,5 i.v.[1]; muito pouco solúvel em etanol, praticamente insolúvel em éter; uma parte é solúvel em 10 partes de água e em 50 partes de clorofórmio.
Vincristina	p.f. 218-220°C; DL 50 (mg/kg): 5,2 i.p.[1]

Legenda: i.v.: intravenosa; i.p.: intraperitonial; s.c.: subcutânea; p.f.: ponto de fusão. [1] Camundongo; [2] Camundongo macho; [3] Cobaia; [4] Rato. [A] O fabricante recomenda que o agente inativante permaneça em contato com o agente por 24 horas, e enxágue subsequente com elevada quantidade de água. [B] Adicionar quantidade suficiente para obter líquido incolor. [D] Incompatível com agentes fortemente oxidantes.

* Em soluções aquosas: sob pH ácido coloração amarelo-alaranjada; pH neutro vermelho-alaranjado; pH > 9, azul-violeta. A solução aquosa não é alterada após um mês a 5°C, mas é instável em temperaturas elevadas ou em um pH ácido ou alcalino.

4. Obter atenção médica que inclui avaliações de risco de inalação especialmente no caso de acidentes que envolvam substâncias de risco na forma de pó e documentar a exposição de forma apropriada.

A remoção e a limpeza de derramamentos de volumes inferiores a 5 mL ou mg em superfícies externas à capela de biossegurança devem ser efetuadas imediatamente, por pessoal usando aventais, pares duplos de luvas e máscara facial. Um respirador apropriado, de preferência aprovado por órgão competente como o NIOSH, deve ser usado para pós ou líquidos, em função da possibilidade da formação de suspensões dessas substâncias no ar. Para líquidos, deve-se utilizar gaze ou outro dispositivo absorvente, enquanto para sólidos, gaze absorvente umedecida ou procedimento similar. A área afetada deve ser limpa três vezes empregando solução de detergente e, em seguida, enxaguada com água. Os fragmentos de vidro têm de ser removidos com uma pequena pá, nunca com as mãos, e colocados em recipientes apropriados para materiais perfurocortantes. Esses recipientes devem ser transferidos para receptáculo (material polimérico rígido) apropriado para acondicionar resíduos e materiais que contenham resíduos de substâncias de risco.

Materiais contaminados reutilizáveis como óculos de segurança devem ser lavados duas vezes com detergente por funcionário devidamente treinado, protegido por duplo par de luvas e avental.

No caso de derramamentos de volumes acima de 5 mL ou 5 mg, deve-se evitar a área e a geração de aerossóis. O espalhamento deve ser contido empregando-se folhas absorventes ou similares, com a finalidade de cobrir o líquido. Se houver acidentes que envolvam pós, devem ser utilizados toalhas ou quaisquer outros materiais absorventes e umedecidos para a remoção do resíduo. Equipamentos de proteção individual, incluindo respiradores adequados, têm de ser empregados no caso de suspeita de suspensão de pós no ar ou de material volátil. Nesse caso, a inativação química deve ser evitada, pois consiste em um processo complexo que requer conhecimento e treinamento especializados. Existem procedimentos validados para a inativação de agentes específicos, como relatado anteriormente[50,53,54], porém eles variam de uma substância para outra e podem ser impraticáveis para pequenos volumes. Outro possível problema originado do contato entre a substância contaminante e outras substâncias químicas decorre de reações entre elas, gerando outros possíveis agentes tóxicos. Além disso, muitos dos inativantes químicos são substâncias igualmente tóxicas e perigosas[49].

Em derramamentos considerados de grande extensão em cabines de segurança biológica (volume total de um frasco, independentemente do volume, ou volume superior a 150 mL), após a limpeza com detergente neutro, deve ser realizada a descontaminação. Caso o filtro HEPA apresente contaminação, todo o equipamento tem de ser selado com material polimérico até a troca do filtro. Este então deverá ser descartado de forma apropriada, por pessoal treinado usando equipamentos de proteção adequados. Antes da limpeza, equipamentos e vestimentas apropriados têm de ser utilizados. As folhas absorventes usadas na limpeza devem ser incineradas, enquanto os óculos de proteção e respiradores devem ser limpos antes e depois de sua utilização, empregando detergente neutro e água.

A manutenção de *kit* específico para situações que envolvem extravasamento ou derramamento de substâncias de risco é altamente recomendável. Ele pode ser constituído de uma caixa de material plástico e conter no seu interior os seguintes itens: máscara facial, dois pares de luvas cirúrgicas, luvas para limpeza, um avental com baixa permeabilidade, duas folhas de papel absorvente na dimensão de aproximadamente 30 x 30 cm, dois frascos com volumes de 250 mL e 1 L, um recipiente para objetos perfurocortantes, uma pequena pá para coleta de fragmentos de vidro e dois receptáculos grandes, específicos para descarte de drogas de risco[8,55].

ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE DROGAS DE RISCO

As substâncias de risco devem ser acondicionadas em recipientes adequados (material polimérico rígido), lacradas e identificadas corretamente e transportadas em contêineres apropriados para evitar a quebra dos recipientes. O pessoal envolvido no transporte deve ser treinado quanto a procedimentos de derramamentos, isolamento de áreas contaminadas e acionamento de assistência apropriada. O recebimento do material também deve ser feito por pessoal devidamente treinado. Evidências de destruição, ruptura ou falta de integridade do material empregado para a segurança no transporte indica o estabelecimento de procedimentos de recebimento específicos. Equipamentos de proteção e dispositivos para descarte de drogas de risco devem ser mantidos nas áreas de recebimento. Drogas de risco acondicionadas em embalagem danificada têm de ser examinadas em áreas isoladas ou em cabine de segurança biológica, empregando pares duplos de luvas, paramentação apropriada, óculos de proteção e respiradores adequados. Todo o pessoal envolvido deve estar devidamente treinado para processar possíveis unidades quebradas. Frascos quebrados e material de embalagem contaminado serão transferidos para um recipiente destinado exclusivamente a resíduos perfurocortantes. Após lacrado, ele deverá ser transferido para os recipientes de descarte de drogas de risco. Tais recipientes devem ser então colocados em receptáculos específicos, devidamente identificados como resíduo de drogas de risco[8].

O acesso às áreas de armazenamento de substâncias de risco deve ser limitado ao pessoal autorizado, com sinalização de acesso restrito na entrada. Os procedimentos

que visam a orientar sobre situações de acidentes potenciais com derramamentos em superfícies ou contato com a pele, mucosa ou olhos devem ser facilmente acessados pelo pessoal autorizado. Os contêineres, assim como as prateleiras destinadas ao armazenamento de drogas de risco, devem ser adequadamente identificados, com rótulo que contenha aviso de precaução e cuidados no manuseio.

Os demais produtos biológicos e químicos estão apresentados nos Capítulos 5 e 6 no que se refere ao armazenamento e ao transporte.

GUIA PARA MANIPULAÇÃO DE DROGAS DE RISCO

Como descrito anteriormente, as principais rotas de exposição durante a preparação de substâncias de risco são a inalação de aerossóis e o contato direto com a pele. Dessa forma, o uso de técnicas adequadas, de equipamentos de proteção e de cabine de segurança biológica na manipulação de drogas de risco constituem medidas eficazes no que se refere à segurança do profissional potencialmente exposto.

No caso específico de drogas de risco, recomendações que visam a alcançar condições ideais de trabalho são exaustivamente discutidas e apresentadas por órgãos oficiais ou por instituições não governamentais, como é o caso do National Institutes of Health (NIH), ASHP e OSHA. Tais recomendações baseiam-se em critérios de avaliação organizados em quatro grupos e, após desenvolvimento adequado, fundamentam o programa de garantia de qualidade.

O primeiro grupo de informações refere-se à proteção e segurança do material da embalagem das drogas de risco, com o objetivo de minimizar acidentes e, consequentemente, a exposição de profissionais e demais pessoas envolvidas. O segundo abrange aspectos de treinamento das práticas seguras de manipulação das drogas de risco na prevenção da exposição a essas substâncias.

As técnicas para prevenir a liberação das drogas de risco no ambiente durante sua manipulação são enfatizadas no terceiro grupo. O último grupo de informações consiste em orientações para minimizar riscos decorrentes da ingestão, da inalação e do contato dessas substâncias com a pele[8]. Além de possibilitarem o completo desenvolvimento do programa de qualidade, disponibilizado pelo ASHP, algumas recomendações podem ser consideradas úteis por apresentarem conteúdo prático e de rápida assimilação pelos profissionais envolvidos. Sendo assim, algumas considerações relacionadas à preparação de drogas antineoplásicas injetáveis podem ser descritas da seguinte forma[43].

1. Todos os procedimentos que envolvem a manipulação de drogas de risco devem ser efetuados empregando-se, no mínimo, cabine de segurança biológica classe II tipo A, porém, sempre que possível deve-se empregar classe II tipo B em função da exaustão do ar para uma área externa.
2. O usuário da cabine de segurança biológica deve conhecer as características técnicas do equipamento, assim como as condições para seu perfeito funcionamento. O número de operações realizadas dentro do equipamento e de materiais contidos no seu interior precisa ser compatível com seu tamanho.
3. A superfície de trabalho da cabine de segurança biológica deve ser provida de revestimento em material com face superior absorvente e face inferior impermeável.
4. As técnicas assépticas devem ser rigorosamente adotadas com a finalidade de preservar as características de qualidade sanitária exigidas para o produto, no caso específico de drogas injetáveis, a esterilidade.
5. Os profissionais envolvidos na preparação de drogas de risco têm de utilizar luvas cirúrgicas, de preferência pares duplos, e avental com frente fechada e punhos. Os aventais podem ser descartáveis (se não houver uma sala limpa) ou laváveis. O avental e as luvas devem ser removidos assim que contaminados. No caso de contato acidental da droga com a pele, a área atingida deve ser lavada com água e sabão. Se ocorrer contaminação na região dos olhos, a região deve ser lavada com água em abundância.
6. Durante a remoção de um produto acondicionado em ampola ou frasco-ampola, deve-se envolver cuidadosamente a parte superior da ampola em algodão umedecido com álcool, objetivando a contenção de possíveis extravasamentos da droga. É necessário utilizar uma técnica similar nos procedimentos de eliminação do ar contido na seringa que possui drogas de risco. Além da contenção de possíveis extravasamentos, tal técnica previne a formação de aerossol.
7. A pressão interna de frascos com droga liofilizada deve ser minimizada para prevenir a suspensão de pó no ambiente de trabalho.
8. A superfície externa de seringas e demais dispositivos devem ser limpos, com a finalidade de evitar quaisquer contaminações no produto.
9. Deve-se evitar a autoinoculação nos procedimentos que envolvem agulhas.
10. É recomendado envolver com algodão umedecido em álcool a parte superior da ampola de vidro, ao abri-la. Tal procedimento, além de prevenir a liberação da droga para o ambiente, protege os dedos de possíveis lesões decorrentes de acidentes com a superfície do vidro.
11. Seringas e frascos para administração endovenosa com drogas antineoplásicas devem ser adequadamente identificados e datados. Quando liberados para administração, deve-se elaborar um rótulo adicional empregando a seguinte frase: “Cuidado – Quimioterápico – Descartar Adequadamente”.

12. Recomenda-se limpar a parte interna da cabine de segurança biológica com álcool a 70% empregando dispositivo descartável, após completar todas as operações de manipulação do produto.
13. Agulhas, seringas, frascos, luvas, papel absorvente, gaze etc. empregados no decorrer da preparação da droga e na limpeza de equipamentos têm de ser transferidos para um recipiente que contenha receptáculo plástico, apropriadamente identificado, selado e conduzido à incineração. As agulhas devem ser acondicionadas no dispositivo protetor, evitando dessa forma contaminações. Aventais não descartáveis têm de ser conduzidos à lavanderia de acordo com o procedimento específico.
14. As mãos devem ser lavadas após a remoção das luvas. A utilização de luvas não substitui a higienização das mãos.
15. Resíduos de drogas antineoplásicas devem ser considerados de forma semelhante ao lixo químico e descartados segundo a legislação vigente.
16. Somente profissionais treinados podem manipular drogas antineoplásicas. O treinamento deve ser oferecido a profissionais recém-admitidos, assim como a profissionais anteriormente treinados, objetivando sua reciclagem. A segurança na manipulação precisa ser enfatizada no treinamento.

De forma similar, as recomendações do NIH são resumidas a seguir, permitindo constatar uniformidade entre as opiniões relativas aos procedimentos para a manipulação segura de drogas antineoplásicas.

1. A reconstituição da droga deve ser feita em cabine de segurança biológica classe II.
2. A exaustão, se possível, deve ser efetuada para uma área externa.
3. A superfície de trabalho da câmara tem de ser coberta com material plástico com face inferior absorvente, para absorver possíveis derramamentos. O papel deve ser removido após cada período de trabalho.
4. O pessoal tem de usar luvas cirúrgicas e avental fechado na frente, com punho.
5. Todos os frascos com drogas reconstituídas devem ser manuseados de forma que a pressão interna seja reduzida.
6. Deve ser usado algodão estéril umedecido com álcool, para envolver a agulha e a parte superior do frasco durante a retirada de alíquota pelo septo. Quando eliminadas as bolhas das seringas, as agulhas têm de ser cobertas com algodão estéril umedecido com álcool.
7. A superfície exterior da seringa e os frascos devem ser limpos de qualquer resíduo da droga.
8. Ao abrir uma ampola de vidro, a parte superior destacada deve ser envolvida com algodão estéril umedecido com álcool para conter a geração de aerossol da droga.
9. Seringas e frascos devem ser adequadamente rotulados, incluindo a advertência para descarte apropriado.
10. A cabine de segurança tem de ser limpa com álcool a 70% empregando toalha descartável (específicas para áreas limpas).
11. Seringas contaminadas devem ser descartadas íntegras, para prevenir a geração de aerossol. Todo material contaminado, frascos, luvas, papéis absorventes, aventais descartáveis, gazes e outros materiais devem ser colocados em dispositivo adequado e incinerados.
12. As mãos têm de ser lavadas após a remoção das luvas.
13. Resíduos de drogas antineoplásicas devem ser descartados de acordo com as exigências legais aplicáveis a substâncias químicas tóxicas.

TREINAMENTO PRÁTICO PARA A MANIPULAÇÃO DE DROGAS DE RISCO

A manipulação de drogas de risco requer habilidade e conhecimento técnico específico, adquirido por meio de treinamento teórico e prático. Tal treinamento deve ser ministrado periodicamente, devendo ser mantidos registros que evidenciem seu conteúdo. Após o treinamento, o profissional deve ser avaliado quanto às questões referentes ao conhecimento teórico e à habilidade prática, com o intuito de constatar sua competência para o exercício da função[8] (USP <797>, www.uspnf.com/uspnf/pub/index?usp=34&nf=29&s=0&officialOn=May%201,%202011). As avaliações podem ser realizadas por meio da observação direta da execução de determinado trabalho. Outro recurso consiste na simulação de um procedimento específico a ser avaliado, empregando-se solução com substância fluorescente sob luz ultravioleta, por exemplo, quinina. Após a execução, constata-se a eficácia da técnica pela observação de possíveis derramamentos oriundos de manipulação imprópria (OSHA, 1986). O conteúdo do treinamento deve abranger vários aspectos, visando, entre outros objetivos, aprimorar a habilidade técnica do profissional, atualizar as informações relativas ao assunto e reavaliar, atualizar ou elaborar procedimentos específicos que contribuam para a segurança dos profissionais expostos a drogas de risco. Dessa forma, o roteiro básico para o desenvolvimento de treinamento pode ser alcançado abordando os seguintes itens[46]:

- Importância da adequada manipulação das drogas de risco: apresentar as razões para a completa adesão aos procedimentos, informar os perigos associados à exposição às drogas de risco e apresentar literatura que aborde procedimentos de segurança.
- Identificação e estocagem das drogas de risco: apresentar lista de substâncias designadas como drogas de risco segundo a International Agency for Re-

search on Cancer (IARC), OSHA, ASHP ou outro órgão; descrever e apresentar embalagem adequada e segura para as drogas de risco; descrever os procedimentos no caso de embalagem danificada; explicar por que são necessárias áreas separadas para a estocagem dessas substâncias; e descrever como tais áreas devem ser identificadas.

- Equipamentos de segurança: demonstrar o correto uso de aventais, luvas e máscaras faciais e explicar a função de cada equipamento de segurança.
- Preparação de drogas de risco: apresentar os principais procedimentos para a manipulação de drogas de risco e demonstrar a técnica apropriada para prevenir a contaminação na reconstituição de produtos, em especial a forma para a remoção do produto acondicionado em frasco-ampola ou ampolas, assim como a forma adequada para a quebra de ampolas e demais procedimentos de rotina. Descrever a função dos tapetes absorventes e do material umedecido com álcool. Além disso, descrever as exigências para a adequada rotulagem de frascos que contenham drogas de risco.
- Utilização das cabines de segurança biológica: descrever os tipos de cabine e os métodos de ventilação para cada equipamento, demonstrar os procedimentos para sua limpeza e descontaminação, informar a frequência da manutenção preventiva e da inspeção do equipamento e apresentar os principais testes executados pelo programa de inspeção.
- Descarte de drogas de risco: demonstrar o uso adequado de contêineres para o descarte de agulhas, de receptáculo para resíduos de drogas de risco e demais dispositivos empregados para o descarte dessas substâncias. Descrever a identificação adequada para os recipientes, contêineres, caixas etc. para o descarte das drogas de risco.
- Derramamento acidental de drogas de risco, incluindo os casos de quebra de frascos: descrever e demonstrar o procedimento para conter e limpar o derramamento e o modo adequado para a utilização do *kit* específico para tal situação. Explicar os casos em que o pessoal da limpeza deve ser acionado.
- Contato ou exposição acidental com drogas de risco: descrever o procedimento para a descontaminação da região exposta, apresentar lista de reagentes adequados para a descontaminação, informar a exata localização de lavadores de olhos e descrever as circunstâncias nas quais o profissional deve procurar assistência médica e contatos de emergência.
- Informações relativas ao comportamento do funcionário nas áreas de manipulação: comunicar a proibição de ingestão de líquidos, alimentação ou estocagem de alimentos na área de manipulação ou próxima à preparação. A utilização de cosméticos também deve ser proibida.
- Programa de vigilância médica: descrever os propósitos desse programa.

PROGRAMA DE VIGILÂNCIA MÉDICA

Os trabalhadores potencialmente expostos a drogas de risco devem ser monitorados por meio de um programa de vigilância médica com a finalidade de prevenir doença ocupacional. O programa visa a identificar preventivamente efeitos biológicos reversíveis, de tal forma que a exposição possa ser reduzida ou eliminada antes de apresentar prejuízos efetivos à saúde. A ocorrência de disfunções e efeitos adversos relacionados à exposição deve ser imediatamente avaliada. As medidas preventivas, como controles dos equipamentos e uso de equipamentos de proteção individual, devem ser avaliadas. Para detecção e controle de efeitos relacionados à exposição ocupacional, as avaliações médicas devem ser realizadas na admissão do profissional na função específica, periodicamente no decorrer do exercício de sua função, após exposições agudas aos agentes e na ocasião de seu afastamento permanente. Tais informações devem ser analisadas de forma sistematizada para permitir a detecção preventiva de doenças no grupo de profissionais, ou individualmente (OSHA, 1986).

Na admissão, a avaliação inicial consiste em um registro histórico efetuado por meio de um questionário detalhado que solicita informações como histórico ocupacional anterior, incluindo informações sobre a extensão de exposição no passado e histórico social, familiar e médico, entre outros. Quanto ao histórico médico, informações sobre situações de gravidez e disfunções anteriores como tumores malignos, distúrbios hepáticos e alterações no sangue devem ser pesquisadas. Além do registro dessas informações, deve-se proceder a exame físico completo enfatizando a pele, a mucosa, os sistemas cardiopulmonares e linfáticos e fígado, além de exames laboratoriais em amostras de sangue e urina. Nessa ocasião, deve também ser fornecida ao profissional informação relativa à intensidade de exposição a que será exposto no decorrer da execução de suas tarefas, à descrição e ao correto uso dos equipamentos de proteção individual. Tais informações podem ser obtidas das avaliações ambientais, quando realizadas. As quantidades e o tipo de droga manipulada, o número de horas de manipulação e o número de preparações por semana devem ser registrados no prontuário médico do paciente[45].

Os exames periódicos devem ser cuidadosamente documentado, assim como qualquer situação de exposição aguda. Os exames físicos e laboratoriais devem seguir o mesmo procedimento do exame admissional. Os exames após exposição aguda devem ser avaliados por meio de relatórios que descrevam o incidente e sua extensão. Os exames serão realizados considerando o risco e a droga envolvida nos outros órgãos e sistemas expostos. Assim, incidentes com envolvimento de drogas citotóxicas requerem, entre outros procedimentos, avaliações da pele e mucosas, e para drogas de risco em aerossol, o sistema pulmonar têm de ser examinado. O

exame demissional deve completar o histórico médico do profissional exposto, incluindo relatos de gravidez, quando pertinente. O procedimento para as avaliações que empregam exames físicos e laboratoriais deve ser realizado da mesma forma que os exames admissional e periódico. Uma base de dados confidencial deve ser mantida com informações relativas ao histórico médico e a problemas na gravidez, como aborto espontâneo e malformação congênita associada à exposição, com a finalidade de facilitar o estudo epidemiológico.

Embora a implementação do programa de vigilância médica seja fundamental, um estudo baseado em respostas relativas a um questionário enviado a profissionais farmacêuticos revelou que apenas 28% dos entrevistados relataram que a empresa apresentava programa de vigilância médica[54].

COMENTÁRIOS GERAIS

A questão pertinente à biossegurança, quando se compara o grupo de produtos que justificaram o presente capítulo, certamente tem o grupo de cosméticos como aquele gera menor incidência de preocupação. A leitura de todo o texto, exceto por questões generalistas, em nenhum momento remeteu particularmente aos cosméticos, ou, abrangendo melhor os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Deve-se pensar, entretanto, no emprego de hormônios, vitaminas e tantos outros componentes com atividade biológica na formulação dos cosméticos atuais. Pensando nos cosméticos, deve-se também pensar em solventes tóxicos usados na fabricação de esmaltes e outros. Assim, não seria admissível a exclusão, neste capítulo, de produtos que o culto ao corpo torna dia a dia mais importantes.

No que tange aos medicamentos, este é o grupo que, com o grande avanço dos produtos antirretrovirais, somando-se a todas as drogas já convencionais ou às inovadoras, representa o item preponderante. Ocupou a maior parte do texto, e em verdade um detalhamento exigiria muito mais para uma abordagem adequada.

Por fim, os correlatos constituem o grupo de maior abrangência. Cresce o número de substâncias orgânicas, enquanto unidade de repetição ou base monomérica, solventes, passando por processamentos de tecnologias as mais distintas. E, entre seu vasto campo de aplicações, a administração de drogas, seja empregando seringas, equipos, cateteres, sistemas implantáveis providos de *ports*, entre outros. Neste momento, acrescem às preocupações inerentes às drogas, antineoplásicas ou não, que impregnam suas paredes e merecem o mesmo tratamento dos medicamentos, aquelas da dúvida quanto ao procedimento ideal para poliméricos não biodegradáveis: incineração ou aterro sanitário. E, no segundo caso, a questão pode-se tornar polêmica ao considerar o quimioterápico adsorvido em sua parede.

Essas e outras questões permitiriam muitas outras considerações. Entretanto, a objetividade a que nos propusemos não permite senão reflexões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Burgess DJ, Reich RR. Industrial ethylene oxide sterilization. In: Morrissey RF, Phillips GB, editors. Sterilization technology: a practical guide for manufactures and users of health care products. Nova York: Morrisey; 1993. p.152-95.
2. American Society of Health-System Pharmacists. ASHP guidelines on handling hazardous drugs. Am J Health-Syst Pharm. 2006;63:1172-93.
3. Doll DC. Aerosolized pentamidine. Lancet. 1989;2: 1284-5.
4. Sessink PJM, Bos RP. Drugs hazardous to healthcare workers. Drug Safety. 1999;20(4):347-59.
5. Henderson DK, Gerberding JL. Prophylactic zidovudine after occupational exposure to the human immunodeficiency virus: an interim analysis. J Infectious Diseases. 1989;160:321-7.
6. McLendon BF, Bron BF. Corneal toxicity from vinblastine solution. Br. J. Ophthalmol. 1978;62:97-9.
7. Iarc. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: Some aziridines, S-, and O-mustards and selenium. International Agency for Research on Cancer. 1975;9:.
8. American Society of Hospital Pharmacists. ASHP technical assistance bulletin on handling cytotoxic and hazardous drugs. Am J Hosp Pharm. 1990;47:1033-49.
9. Selevan SG, Lindbohm M, Hornung RW, Hemminki. A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. N Engl J Med. 1985;313(9):1173-7.
10. Stephens JD, Golbus MS, Miller TR, Wilber RR, Epstein CJ. Multiple congenital anomalies in a fetus exposed to 5-fluorouracil during the first trimester. Am J Obstet Gynecol. 1980;137:747-9.
11. Sotaniemi EA, Sutinen S, To AJ, et al. Liver damage in nurses handling cytostatic agents. Acta Med. Scand. 1983;214:181-9.
12. Chapman RM. Effect of cytotoxic therapy on sexuality and gonedal function. In: Perry MC, Yarbro JW (eds). Toxicity of chemotherapy. Orlando: Grune & Stratton; 1984. p.343-63.
13. Barnhart ER. Physician's Desk Reference. Oradell, Nova Jersey: Medical Economics Data; 1991.
14. Harris D. Health problems in the manufacture and use of plastics. Br J Ind Med. 1953;10:255-67.
15. Lillis R, Anderson H, Nickolson WJ. Prevalence of disease among vinyl chloride and polyvinyl chloride workers. Ann N Y Acad Sci. 1975;246:22-41.
16. Bricarello S. Hormônios. In: Zanini AC, OGA S (eds.). Farmacologia aplicada. São Paulo: Atheneu; 1994. p.613-50.
17. Sertié JAA, Basile AC, Silva ACG. Antibióticos e quimioterápicos antimicrobianos. In: Zanini AC, OGA S (eds.). Farmacologia aplicada. São Paulo: Atheneu; 1994.
18. Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammaliam – microssome mutagenicity test. Mutat Res. 1975;31:347-64.

19. Tuffnell PG, Gannon MT, Dong A, Deboer G, Erlichman C. Limitation of urinary mutagen assays for monitoring occupational exposure to antineoplastic drugs. Am J Hosp Pharm. 1986;43:344-8.
20. Backer R, Arlauskos A, Bonnim A, et al. Detection of mutagenic activity in human urine following fried pork or bacon meals. Cancer Lett. 1982;16:81-9.
21. Bos RP, Leenaars AO, Theuws JLG, et al. Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs: influence of smoking. Int Arch Occup Environ Health. 1982;50:359-69.
22. Everson RB, Ratcliffe JM, Flack PM, Hoffman DM, Watanabe AS. Detection of low levels of urinary mutagen excretion by chemotherapy workers which was not related to occupational drug exposures. Cancer Research. 1985;45:6487-97.
23. Malaveille C, Bartsch H, Barbin A, Camus AM, Montesano AM, Croisky A, et al. Mutagenicity of vinyl chloride, chloroethyleneoxide, chloroacetaldehyde and chloroethanol. Biochem Biophinis Res Commun. 1975;63:363-70.
24. Elmore JD, Wong JL, Laumbach AD, Streips UN. Vinyl chloride mutagenicity via the metabolites chlorooxirane and chloroacetaldehyde monomer hydrate. Biochim Biophys Acta. 1976;442:405-19.
25. Bahyan S, Burgaz S, Kara Kaia AE. Urinary thioether excretion in nurses at an oncology department. J Clin Pharm Ther. 1987;12:303-6,.
26. Sessink PJM, Friemel NSS, Airton RBM, et al. Biological and environmental monitoring of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to metrotrexate. Int Arch Occup Environ.Health. 1994;65:401-3.
27. Kleinberg ML, Quinn MJ. Airborne drug levels in a laminar-flow hood. Am J Hosp Pharm. 1981;38:1301-3.
28. Mader RM, Rizovski B, Steger GG, Rainer H. Determination of methotrexate in human urine at nanomolar levels by high – performance liquid chromatography with column switching. J Chromatogr. 1993;613:311-6.
29. McDiarmid MA, Egan MA, Furio M, Bonacci M, Watts SR. Sampling for airborne fluorouracil in a hospital drug preparation area. Am J Hosp Pharm. 1986; 43: 1942-45.
30. Neal AWN, Wadden RA, Chiou WL. Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. Am J Hosp Pharm. 1982;40:597-601.
31. Sessink PJM, Scholtes MM, Anzion RBM, Bos RP. Determination of cyclophosphamide in urine by gas chromatography – mass spectrometry. J Chromatogr. 1993;616:333-7.
32. Sessink PJM, Timmersmans JL, Anzion RBM, Bos RB. Assessment of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to 5 – Fluouracil. J Occup Med. 1994;36(1):79-83.
33. Lao NT, Lu HTC, Rego A, Kosakowski RH, Burgess DJ, Hume RD. Interlaboratory comparison of analytical methods for residual ethylene oxide at low concentration levels in medical devices materials. J Pharm Sci. 1995;84(5):647-55.
34. McDevitt JJ, Less PSJ, McDiarmid MA. Exposure of hospital pharmacists and nurses to antineoplasic agents. J Occup Med. 1993;35(1):57-60.
35. Sarto F, Tornqvist MA, Tomanin R, Bartolucci GB, Osterman-Golkar SM, Ehrenberg L. Studies of biological and chemical monitoring of low-level exposure to ethylene oxide. Scand J Work Environ Health. 1991;17:60-4.
36. Sessink PJM, Cerná M, Rössner P, et al. Urinary cyclophosphamide excretion and chromossomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplasics agents. Mutat Res. 1994;309:193-9.
37. Fuchs J, Wullenweber U, Hengstler JG, Bienfait HG, Hiltl G, Oesch F. Genototoxic risk for humans due to work place exposure to ethylene oxide: remarkable individual differences in susceptibility. Arch Toxicol. 1994;68:343-8.
38. Federal Standard 209 E. Clean Room and Work Station requirements, Controlled Environment, U. S. Government Printing Office, 1992, General Services Standardization Division, Washington, DC.
39. Nguyen TV, Theiss JC, Matney TS. Exposure of pharmacy personnel to mutagenic antineoplastic drugs. Cancer Research. 1982;42:4792-6.
40. Hamm JL, Daniels CE, Somani SM. Antibiotic preparation time in a horizontal laminar-airflow hood and in a biological-safety cabinet. Am J Hosp Pharm. 1984;41:1349-51.
41. Bryan D, Marback RC. Laminar-airflow equipment certification: What the pharmacist needs to know. Am J Hosp Pharm. 1984;41:1343-48.
42. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu; 2000.
43. Zimmerman PF, Larsen RK, Barkley EW, Gallelli. Recommendations for the safe handling of injectable antineoplastic drug products. Am J Hosp Pharm. 1981;38:1693-5.
44. Ferrerós M. Cabine de Segurança Biológica. Rev SBCC. 2001;3:16-25.
45. Power LA, Anderson RW, Cortopassi R, Gera JR, Lewis Jr RM. Update on safe handling of hazardous drugs: The advice of experts. Am J Hosp Pharm. 1990;47:1050-60.
46. Arrington DM, McDiarmid MA. Comprehensive program for handling hazardous drugs. Am J Hosp Pharm. 1993;50:1170-4 .
47. Laidlaw JL, Connor TH, Theiss JC, Anderson RW, Matney TS. Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to 20 antineoplastic drugs. Am J Hosp Pharm. 1984;41:2618-23.
48. Wong RJ. Glove selection for handling cytotoxic and hazardous drugs. Am J Hosp Pharm. 1990;47.
49. Vaccari PL, Tonat K, DeChristoforo R, Gallelli JF, Zimmerman PF. Disposal of antineoplastic wastes at the National Institutes of Health. Am J Hosp Pharm. 1984;41:87-93.
50. Castegnaro M, Méo MD, Laget M, Michelon J, Garren L, Sportouch MH, Hansel S. Chemical degradation of wastes of antineoplastic agents. Int Arch Occup Environ Health. 1997;70(6):378-84. ,
51. Furuhashi M, Miyamae. Ethylene oxide sterilization of medical devices – with special reference to the sporicidal activity and residual concentration of ethylene oxide and its secondary products. Bull Tokyo Med Dent Univ. 1982;29: 23-5.
52. Oliveira DC. Esterilização por óxido de etileno: Estudo da efetividade esterilizante de misturas não explosivas e compatíveis com a camada de ozônio. [Dissertação] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 2000.
53. Lunn G, Sansone EB. Validated methods for handling spilled antineoplastic agents. Am J Hosp Pharm. 1989;46.
54. Johnson EG, Janosik JE. Manufacturers recommendations for handling spilled antineoplastic agents. Am J Hosp Pharm. 1989;46:318-9.
55. Christensen CJ, Lemasters Cj, Wakeman MA. Work practices and policies of hospital pharmacists preparing antineoplastic agents. Occupational Medicine. 1990;32(6):508-12.
56. The Merck Index. 12. ed. Withhouse Station: Merck & Co. Inc.; 1996.

capítulo 9

Biossegurança e câncer

Fernando Salvador Moreno
Renato Heidor
Thomas Prates Ong

INTRODUÇÃO

Cerca de 7,6 milhões de pessoas morreram em 2008 em todo o mundo em decorrência dos diferentes tipos de câncer. As maiores mortalidades, independentemente do sexo, foram observadas em pacientes com câncer de pulmão, estômago, fígado e cólon. Segundo recente relatório da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC), o impacto global da doença mais que dobrou em 30 anos e estima-se que, no ano de 2008, ocorreram cerca de 12,7 milhões de casos novos no mundo, sendo 480 mil no Brasil[1,2].

Desde o século XVIII, pesquisadores associaram agentes ambientais e ocupacionais com o aumento na incidência de diversos tipos de câncer. É o caso, por exemplo, de Sir Percival Pott, que chamava a atenção para a elevada incidência de câncer de escroto entre limpadores de chaminé de Londres. Segundo esse médico, a causa estaria relacionada ao contato constante com o alcatrão e a fuligem presente nas chaminés. Nesse mesmo período, Rigoni-Sterni e Ramazzini apontavam, no caso de freiras, para a relação entre o câncer de mama e o celibato. No século seguinte, em 1879, Harting e Hesse estabeleciam uma relação entre a ocupação profissional, nesse caso mineiros da região da Floresta Negra, na Alemanha, e o câncer de pulmão. Nessa época, cerca de 75% desses trabalhadores morriam por esse motivo. A causa indicada para tais casos foi a radiação oriunda do urânio das minas. No caso de trabalhadores da indústria de corantes, mais especificamente a anilina, Rehn relatava, em 1895, uma relação entre o câncer de bexiga e esse tipo de ocupação, sendo sua causa o contato com aminas aromáticas, sobretudo a naftalina[3].

Higginson e Muir[4] afirmaram que 80% dos casos de câncer são decorrentes de exposição a fatores ambientais[5]. Desde então, diversos estudos foram conduzidos no sentido de quantificar a exposição a substâncias presentes no ambiente de trabalho e o risco de desenvolvimento de neoplasias. Assim, em 1996, em um estudo conduzido pelo Centro de Prevenção do Câncer da Universidade de Harvard, nos Estados Unidos, foram classificadas 32 substâncias como prováveis agentes carcinogênicos. Em outro estudo, conduzido em 2004, 28 agentes foram classificados como carcinógenos ocupacionais e 140 como prováveis agentes carcinogênicos no ambiente de trabalho[6]. Há aproximadamente 10 anos, foi estimado que 10% das 80.000 substâncias sintéticas em uso na época apresentariam, em algum grau, potencial carcinogênico[5].

CARCINOGÊNESE

Carcinogênese é a denominação utilizada para o desenvolvimento de neoplasia, que basicamente é o aumento autônomo do número de células de um tecido. A neoplasia pode ser benigna, ou seja, apresenta proliferação celular localizada e circunscrita, exercendo pressão nos tecidos adjacentes, que, no entanto não ultrapassa suas divisas (Figura 1). O câncer, ou neoplasia maligna, ao contrário da benigna, apresenta grande capacidade de invadir e se multiplicar em diferentes partes do organismo, inclusive a distância de seus locais de origem em um processo denominado metástase (Figura 2).



Figura 1. Aspecto macroscópico de fígado de rato submetido a modelo de hepatocarcinogênese. Observar a presença de neoplasias benignas, caracterizadas pelas formações nodulares na superfície, de cor amarelada e com contornos bem definidos.
Fonte: Moreno FS; 1999.



Figura 2. Aspecto macroscópico de fígado de rato submetido a modelo de hepatocarcinogênese. Observar a presença de neoplasia maligna, caracterizadas pelas formações nodulares de coloração amarelada ou esbranquiçada, com volumes desiguais e contornos irregulares e mal delimitados, comprometendo e deformando grosseiramente o órgão.
Fonte: Moreno FS; 1999.

A carcinogênese pode ter origem endógena, hereditável, responsável por 10 a 20% dos casos de câncer. Nessa situação, ocorre comprometimento da capacidade do organismo do paciente em se defender de agressões externas[1]. As causas exógenas são responsáveis pela maior parte das ocorrências da doença. Assim, agentes carcinogênicos de origem química, física ou biológica podem interagir com o organismo por meio de rotas respiratórias, digestórias, cutâneas ou outras[7].

O desenvolvimento do câncer é um processo longo, que requer cerca de metade a dois terços da vida do paciente[8], como demonstrado na Figura 3, em que a incidência de neoplasias aumenta com a idade do indivíduo[9].

Dessa forma, aventou-se a hipótese de que a carcinogênese necessita de várias fases independentes para o seu completo desenvolvimento. O número de fases é bastante discutido, mas supõe-se que o processo pode ser caracterizado em três etapas fundamentais: iniciação, promoção e progressão (Figura 4)[7].

No primeiro estágio da carcinogênese, conhecido como etapa de iniciação, ocorrem alterações irreversíveis no material genético da célula iniciada. Por outro lado, a promoção não envolve modificações permanentes no DNA. Dessa forma, essa etapa pode ser caracterizada como reversível e de longa duração, com intensa atividade proliferativa das células iniciadas. A progressão, assim como a iniciação, também é irreversível e é caracterizada pela instabilidade cariotípica. Alterações na estrutura do genoma das células estão relacionadas, nessa etapa, com uma taxa de proliferação elevada, características invasivas e modificações bioquímicas nas células[10].

Para que ocorra a iniciação, é necessário que o carcinógeno exógeno entre em contato com o material genético da célula. Todos os organismos apresentam membranas celulares com permeabilidade seletiva; substâncias polares, como determinadas moléculas orgânicas e compostos metálicos são transportados para o meio intracelular através de receptores, proteínas transportadoras ligadas à membrana ou canais iônicos. Já os compostos orgânicos apolares são transportados por difusão pelas membranas celulares, ou seja, passivamente, dadas as suas características lipofílicas. É o caso de hidrocarbonetos aromáticos halogenados, como as dioxinas. O tecido adiposo pode acumular substâncias lipofílicas. Assim, durante a lipólise, eventuais carcinógenos pre-

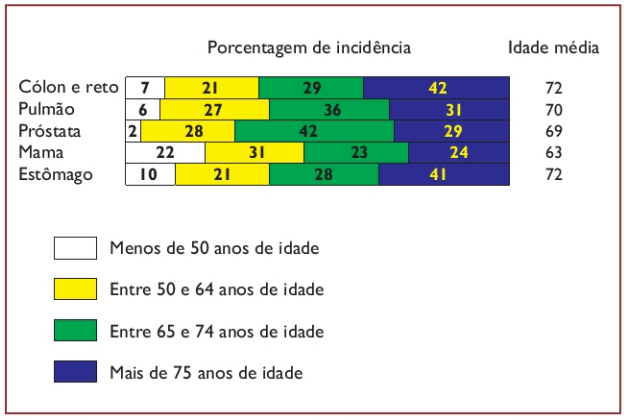


Figura 3. Distribuição pela idade e idade média de incidência dos principais cânceres.
Fonte: adaptada de Edwards et al., 2002.

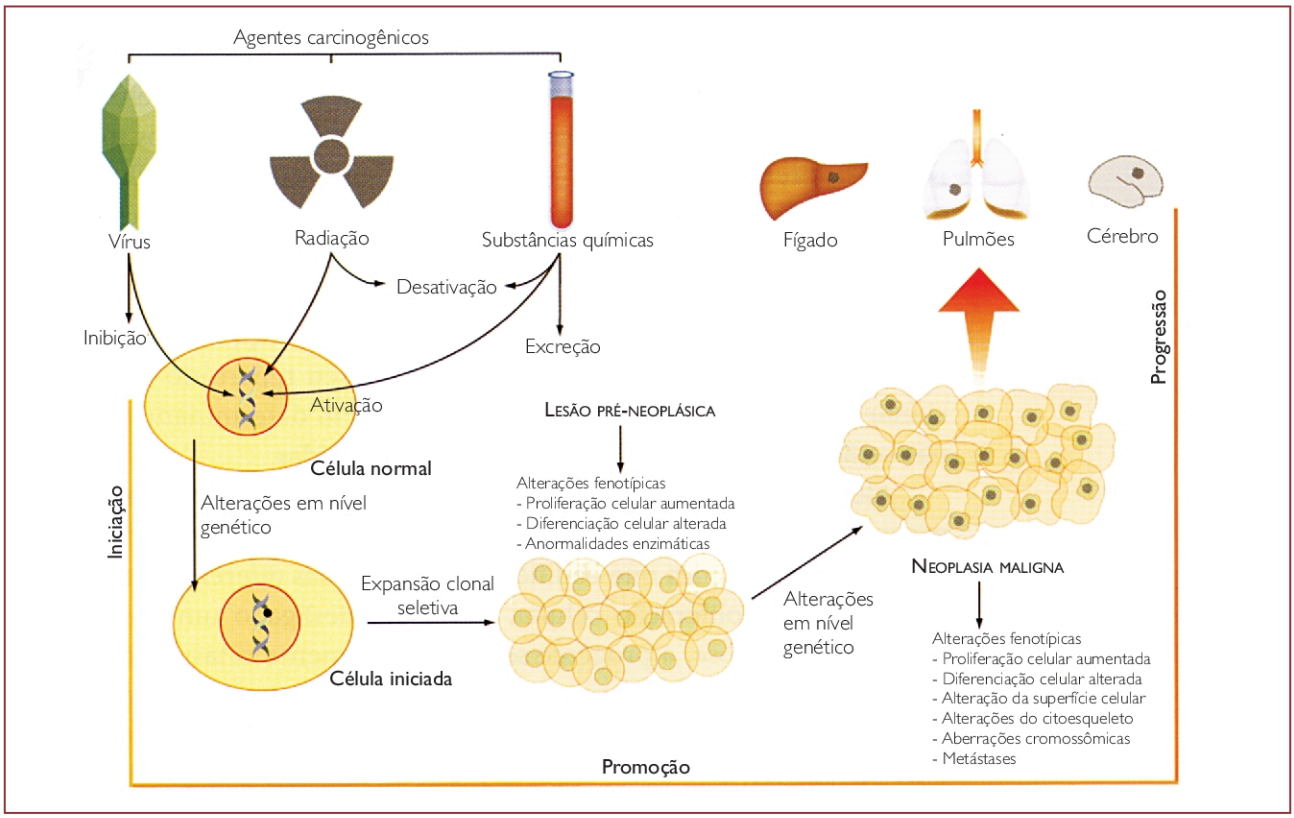


Figura 4. Esquema geral e simplificado de diferentes etapas do processo de carcinogênese.

sentes nos adipócitos podem ser lançados na circulação sanguínea e atuarem como agentes iniciadores nas células de outros tecidos[7].

Estima-se que 25% dos carcinógenos atuem diretamente no material genético da célula, sem a necessidade de reações químicas adicionais que os transformem em compostos mais reativos. Dessa forma, são denominados agentes carcinogênicos diretos e fazem parte desse grupo as dioxinas. A grande maioria, entretanto, necessita de ativação metabólica para interagir com o DNA e iniciar o desenvolvimento da neoplasia. Assim, essas substâncias são denominadas agentes carcinogênicos indiretos e fazem parte desse grupo os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos[7].

Um grande número de vias metabólicas intracelulares pode ativar ou inativar substâncias exógenas. Uma característica importante que determina se um carcinógeno será metabolizado mais rapidamente ou não é a sua estrutura química. Por exemplo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos que apresentam dois átomos de carbono adjacentes no anel aromático ligados a outros grupos são biotransformados lentamente, com meia-vida com ordem de grandeza de semanas a anos, enquanto os que não apresentam essa característica podem ser metabolizados rapidamente[7].

Carcinógenos exógenos podem apresentar afinidade pela proteína AhR (sigla do inglês *aryl hydrocarbon receptor*), que é um importante indutor de enzimas da superfamília do citocromo P450 (CYPs). As CYPs podem ativar carcinógenos indiretos e contribuir para o desenvolvimento da neoplasia. Entretanto, suas atividades podem ser modificadas por exposições ao ambiente, hormônios e alimentação[11].

O carcinógeno direto ou indireto, após ativação metabólica, pode ser transformado em um composto eletrofílico que, por sua vez, pode reagir com centros nucleofílicos do DNA, produzindo compostos estáveis denominados adutos. Se este não for eliminado pelo sistema de reparo, após a replicação do DNA seguida por divisão celular ocorre a formação de mutações. Evidências recentes sugerem que durante a síntese de DNA e a proliferação de células normais, mutações podem ocorrer através de erros no sistema de reparo, resultando em células espontaneamente iniciadas[11].

Em 1976, Harris et al.[12] demonstraram que ocorriam diferenças na ativação de CYPs entre indivíduos expostos ao benzopireno, que foram relacionadas com variações polimórficas nos alelos dos genes que codificam para essas enzimas. Assim, polimorfismos genéticos podem ocorrer em diversos genes e também várias

vezes no mesmo gene. Dessa forma, como exemplo, há 178 polimorfismos para a CYP1B1[13]. Dentre as diversas alterações polimórficas descritas, as que ocorrem em genes de reparo sugerem que a correção de danos no DNA pode ser influenciada por variações genéticas, as quais podem estar envolvidas com a susceptibilidade individual ao câncer[14].

O câncer é considerado uma doença genética, no sentido de que seu desenvolvimento pode estar relacionado com a ação de genes específicos, inclusive os que controlam o ciclo celular. Este é uma sequência ordenada de eventos em que a célula duplica o seu material genético (cromossomos) e se divide em duas células idênticas. Essa divisão ocorre em quatro fases distintas: na fase S [*synthesis* (síntese)] o material genético é duplicado e, na fase M [*mitosis* (mitose)] os cromossomos duplicados são distribuídos igualmente entre duas células filhas. As fases restantes são simplesmente denominadas de G1 [*gap 1* (intervalo 1)] e de G2 [*gap 2* (intervalo 2)]. G1 precede a fase S e G2 antecede a fase M. Vários mecanismos regulatórios atuam em todas as fases do ciclo celular, destacando-se as proteínas denominadas ciclinas e as cdks [*cyclin dependent kinases* (ciclinas dependentes de quinases)][15].

Na carcinogênese ocorre, frequentemente, a ativação aberrante do ciclo celular alcançada pela inativação dos genes inibidores, tais como os supressores de tumor, por mutações ou diminuição de sua expressão. Nesse processo ocorre também a ativação de genes estimuladores, como os proto-oncogenes[16].

Os diversos processos de morte celular também constituem fenômeno biológico importante. Dentre eles, a apoptose constitui evento fisiológico organizado, essencial para a manutenção da homeostase, envolvendo redução do volume celular, fragmentação do núcleo e formação de corpúsculos apoptóticos[17].

Duas vias podem dar início à apoptose: a via extrínseca, mediada por receptores de morte presentes na membrana plasmática; e a via intrínseca, associada com o aumento da permeabilidade mitocondrial. Em ambas, descreve-se que há ativação de proteases específicas, as caspases, responsáveis pela quebra do substrato celular[18].

A etapa de progressão da carcinogênese envolve também a perda de comunicação entre a célula neoplásica e as outras ao seu redor. Nessa fase, ocorre a produção de enzimas proteolíticas que degradam a matriz extracelular a libera a célula para ser transportada pela corrente sanguínea. Além da degradação da matriz extracelular, há a liberação de fatores de crescimento que estimulam as paredes internas dos vasos sanguíneos a proliferar, formando novas veias e artérias em um processo denominado angiogênese[19]. Já a instabilidade genômica, característica da progressão, ocorre quando há grandes danos no material genético da célula, de forma que o sistema de reparo seja incapaz de atuar. Dessa forma, a célula está sujeita a alterações grosseiras, como perdas de material cromossômico, amplificações, duplicações ou inversões de genes, translocações e substituição de pares de base. Assim, é possível que célula adquira resistência ao tratamento com quimioterápicos ou radiação[20].

O mecanismo de ação de diversos carcinógenos ainda não está completamente descrito. Muitos destes não induzem a formação de adutos, um mecanismo chave para agentes carcinogênicos genotóxicos. Dessa forma, outros eventos podem estar envolvidos com a carcinogênese, por exemplo, os que envolvem alterações epigenéticas[21].

EPIGENÉTICA E CARCINOGÊNESE

No início da década de 1980, Feinberg e Volgestein[22] observaram alterações no padrão de metilação de células neoplásicas. Esse foi um dos primeiros eventos epigenéticos relatados em neoplasias, nas quais modificações na expressão gênica foram observadas com diferentes consequências fenotípicas, sem que ocorressem mudanças na seguência do DNA[23]. Porém, até poucos anos atrás, o termo epigenético era vago e não universalmente aceito. Entretanto, vários estudos demonstraram que diversos genes podem ser anormalmente expressos quando a célula é exposta a compostos que não apresentam potencial mutagênico[24].

A metilação é a principal herança epigenética do genoma humano e consiste na adição covalente de um grupo metila na posição 5' do anel da citosina do dinucleotídeo formado por citosina e guanina. Em neoplasias, foram observados dois tipos concomitantes de alterações da metilação do DNA. No primeiro, a quantidade de citocinas metiladas em nível genômico está reduzida em comparação a tecidos normais. No segundo caso, mais intensamente estudado, genes estão transcricionalmente silenciados no câncer, em decorrência de uma hipermetilação do seu promotor[25]. Genes regulados dessa forma incluem os supressores de tumor, os envolvidos com o reparo do DNA e aqueles responsáveis pelo controle da proliferação e diferenciação celulares[26]. Assim, acredita-se que a metilação contribua para a carcinogênese, por meio da inativação da expressão gênica[27].

O DNA humano é condensado e ordenado em uma estrutura dinâmica denominada cromatina. Esta é constituída por unidades básicas de repetição, os nucleossomos, que consistem de, aproximadamente, duas voltas da fita de DNA em torno de um octâmero formado por pares de proteínas histonas. Essas proteínas apresentam domínios que podem ser modificados por diversos tipos de reações, como as de metilação e acetilação[28].

Tabela 1. Fatores de risco para o câncer	
Categoria	**Exemplo**
Endógeno	
Predisposição genética	Xerodermia pigmentosa
Hormônios	Estrógenos
Exógenos	
Agentes químicos	Benzeno
Processos industriais	Indústria da borracha
Material particulado	Asbestos
Hormônios sintéticos	Reposição hormonal
Radiação ionizante	Raios X
Radiação não ionizante	Luz UV
Vírus	Vírus da Hepatite B
Hábitos culturais	Fumaça do cigarro
Iatrogenia	Fármacos citotóxicos
Dieta	Consumo deficiente de fibras alimentares

Adaptada de Vainio e Winder[31]

A modificação de histonas mais estudada, a acetilação, reduz a afinidade destas pelo DNA. Assim, o domínio da histona é desprendido do nucleossomo, afrouxando a estrutura da cromatina, permitindo o acesso de fatores de transcrição[29]. Alterações no padrão de acetilação das histonas podem levar à perda da atividade normal da célula e, em última instância, ao desenvolvimento do câncer[30].

A maior parte das doenças de caráter genético é causada por alterações em diversos genes. O mesmo ocorre com o câncer, no qual, além das modificações genéticas, deve-se considerar, também, as epigenéticas como fundamentais para a sua etiologia. Dada a complexidade do processo de desenvolvimento do câncer, a prevenção é a melhor abordagem frente a essa doença. E para tanto, é necessário conhecer os fatores de risco para o desenvolvimento do câncer.

FATORES DE RISCO PARA O CÂNCER

As categorias de fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento do câncer estão descritas na Tabela 1. Eles podem atuar isoladamente ou combinados. Os fatores genéticos são hereditáveis e seu controle, no momento, ainda não é completamente possível. Indivíduos predispostos podem exercer algum tipo de controle por meio de medidas preventivas, como modificações na alimentação, prática de atividade física, não utilização do tabaco e de bebidas alcoólicas, proteção quanto à exposição à radiação ultravioleta (UV) e padrão de comportamento sexual mais seguro[31]. Quanto às modificações nos hábitos alimentares, diversas pesquisas demonstram que o consumo regular de frutas e hortaliças pode modular a carcinogênese[32]. Dessa forma, foi instituído por uma parceria entre agências de saúde norte-americanas, o Programa Nacional de Frutas e Hortaliças, no qual é preconizado o consumo de cinco porções diárias desses alimentos no sentido de reduzir a incidência de diversas doenças crônicas, inclusive o câncer[33].

Fatores ambientais incluem exposição ocupacional a carcinógenos, que podem ocorrer durante procedimentos industriais, médicos e laboratoriais. Esses fatores podem ser controlados com equipamentos de proteção individual e coletiva.

O trabalho em laboratórios e o risco de câncer

Em meados da década de 1980, observaram-se diversos casos de câncer em diferentes institutos de pesquisa biológicas[34]. Isso levou a IARC iniciar, em 1986, um amplo estudo retrospectivo envolvendo diversos

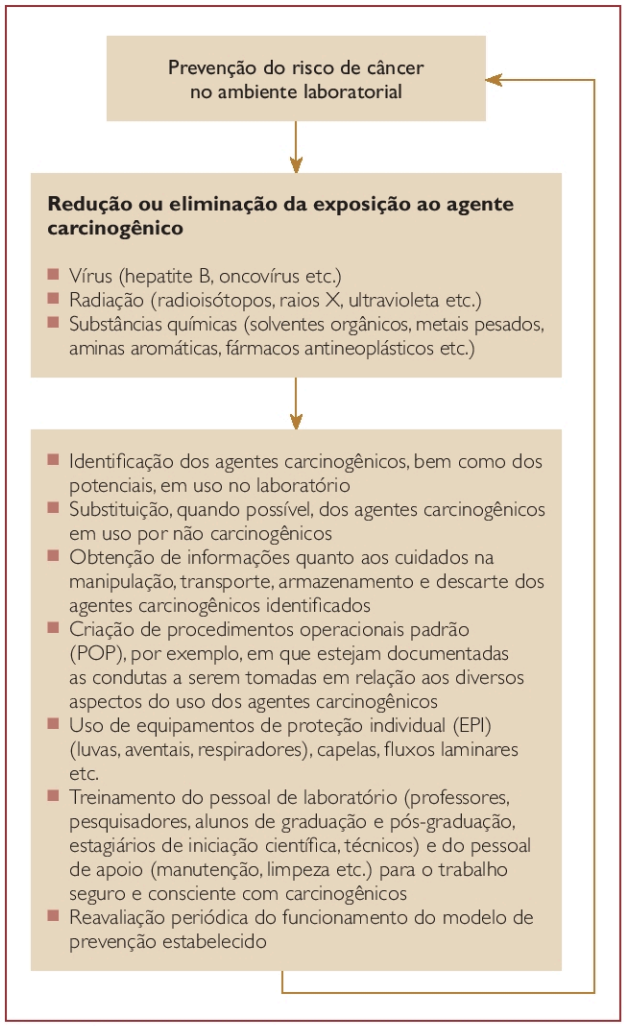


Figura 5. Prevenção do risco de câncer no ambiente laboratorial.

países europeus, que teve como objetivo avaliar o risco de câncer entre trabalhadores da área de pesquisa biológica[35].

Nesse sentido, diversos autores têm levantado a possibilidade de existência de risco aumentado para o desenvolvimento de câncer entre indivíduos que trabalham em laboratórios[36]. Embora ainda não seja conclusiva a relação entre o trabalho em laboratórios e o risco de desenvolvimento de câncer[37], diversos estudos epidemiológicos têm indicado taxas excessivas de incidência e mortalidade por câncer entre indivíduos que trabalharam em laboratórios[38,39].

Alguns desses casos de neoplasias têm sido atribuídos, ainda que em parte, a substâncias como o benzeno eoutros solventes, substâncias nitrosadas e epóxidos[36].

Há alguns anos foram disponibilizados pelo Carex (Carcinogen Exposure) vários dados sobre a exposição de trabalhadores europeus a diversos carcinógenos. O Carex é um sistema internacional de informação sobre a exposição ocupacional a agentes carcinogênicos conhecidos ou suspeitos, que é resultado de uma iniciativa do programa A Europa contra o Câncer, da Comunidade Europeia. Os dados gerados constituem estimativas do número de trabalhadores expostos relativos ao país, a carcinogênicos e ao tipo de atividade econômica. Assim, estimou-se que no período de 1990 a 1993 cerca de 32 milhões de trabalhadores (23% da força de trabalho) da comunidade europeia sofreram exposição a agentes suspeitos de causar o câncer. No caso particular de institutos de pesquisa, acredita-se que cerca de 100 mil indivíduos tenham sido expostos a carcinógenos, tendo sido o total de exposições da ordem de 140 mil[40].

A prevenção do câncer no ambiente laboratorial

A prevenção do câncer no ambiente laboratorial está fundamentada na eliminação ou na redução da exposição ao agente carcinogênico. Assim, a adoção de boas práticas de laboratório, que resultem no uso seguro de substâncias químicas carcinogênicas nesse ambiente específico, constitui medida essencial para a redução do risco apresentado por tais compostos (Figura 5).

O USO SEGURO DE SUBSTÂNCIAS CARCINOGÊNICAS

O uso de agentes carcinogênicos em laboratórios pode ser realizado de forma segura, desde que sejam tomadas determinadas precauções. Assim, são apresentadas a seguir algumas orientações quanto a diversos aspectos do uso adequado de substâncias carcinogênicas.

O uso seguro de substâncias carcinogênicas, embora factível, não constitui tarefa simples. Assim, para compreender a magnitude da questão, antes de iniciar o trabalho com tais compostos é interessante que se faça, por exemplo, uma reflexão sobre alguns aspectos associados aos seus empregos, tais como:

- A essencialidade do uso da substância em questão.
- A possibilidade de substituição do carcinógeno por uma substância menos tóxica.
- A existência na literatura e a disponibilidade no laboratório de informações quanto aos aspectos de segurança referentes ao uso do agente carcinogênico.
- A adequação das instalações físicas em que a referida substância será utilizada.
- A forma pela qual o agente carcinogênico e os resíduos contaminados por ele serão descontaminados e descartados.
- Os procedimentos que serão adotados em caso de emergências relacionadas ao carcinógenos, como ingestão acidental, vazamentos, incêndios etc.

Diante desse contexto, é importante ressaltar que a melhor forma de controlar a exposição das pessoas que trabalham diretamente no ambiente laboratorial (analistas, técnicos, professores, alunos de graduação e pós-graduação e estagiários), bem como no apoio (limpeza, manutenção, segurança etc.) ao material carcinogênico consiste em substituí-lo por uma substância que não apresente essa atividade. Caso não exista essa possibilidade, as orientações a seguir constituem uma opção a ser adotada.

Identificação das substâncias carcinogênicas

O trabalho realizado em instituições de pesquisa envolve, em diversas situações, a manipulação de substâncias carcinógenas. Diversos são os ambientes em que esse tipo de substância pode ser encontrado, como os laboratórios químicos, bioquímicos, farmacêuticos, microbiológicos, de histologia, entre outros[41].

Assim, é de extrema importância que sejam inicialmente identificadas em cada laboratório as substâncias em uso consideradas carcinogênicas.

Segundo a Administração da Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA), vinculada ao Departamento do Trabalho dos Estados Unidos, em sua norma para laboratórios, um carcinógeno pode ser definido como qualquer substância que atenda a qualquer um dos seguintes critérios[42]:

- Ser regulamentada pela OSHA como agente carcinogênico.
- Encontrar-se listada na categoria “carcinogênico em humanos”, no Relatório Anual sobre Carcinogêni-

cos publicado pelo Programa Nacional de Toxicologia (NTP) (última edição).
- Encontrar-se listada no Grupo 1A ("carcinogênico em humanos") nas monografias sobre o câncer da IARC (últimas edições).
- Encontra-se listada no Grupo 2A ou 2B, segundo a Iarc, ou na categoria "razoavelmente se antecipa como carcinogênico" pelo NTP, e causar incidência estatisticamente significativa de neoplasias em animais de experimentação, de acordo com qualquer um dos critérios seguintes:
  - após exposição por inalação de cerca de seis a sete horas por dia, cinco dias por semana, por um período significativo da vida da espécie, a dose menores do que 10 mg/m^3.
  - após aplicações repetidas sob a pele de quantidades menores que 300 mg/kg de peso corpóreo, por semana.
  - após doses orais diárias menores que 50 mg/kg de peso corpóreo.

Existem três órgãos que avaliam a carcinogenicidade de diversas substâncias e/ou que regulamentam seu uso. São eles:

Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC)

Estabelecido em 1965 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), esse órgão tem como missão coordenar e conduzir pesquisas sobre as causas do câncer, bem como estratégias científicas para o controle da doença. Desde 1969, a IARC já publicou cem monografias que contêm informações sobre o riso de câncer de diversas substâncias químicas, misturas e condições de exposição, como a ocupacional.

As substâncias testadas pela agência são classificadas em três categorias:

- Grupo 1A: a substância é considerada carcinogênica em humanos.
- Grupo 2A: a substância é provavelmente carcinogênica em humanos.
- Grupo 2B: a substância é possivelmente carcinogênica em humanos.

As informações completas relativas às monografias da IARC podem ser encontradas no seguinte site: http://monographs.iarc.fr/

Programa Nacional de Toxicologia (NTP)

O NTP é responsável pela elaboração do relatório anual sobre carcinogênicos, publicado pela Secretaria do Departamento de Serviços de Saúde e Humano dos Estados Unidos. Nesse relatório são apresentadas substâncias que demonstraram ou levantaram suspeitas de serem capazes de causar câncer em humanos. Os carcinogênicos são agrupados em duas categorias: carcinogênicos conhecidos ou provavelmente carcinogênicos. O relatório anual sobre carcinogênicos pode ser encontrado no seguinte site: http://ntp-server.niehs.nih.gov/NewHomeRoc/AboutRoC.html

Administração da Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA)

Esse órgão tem sua atuação direcionada para a regulamentação do uso de diversos agentes carcinogênicos por meio de padrões. Estes estabelecem diretrizes para manipulação, armazenamento e outros aspectos da utilização desses carcinogênicos.

Também é possível obter listas de substâncias carcinogênicas em sites de universidades, por exemplo:

- University of Oxford: http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/carcinogens.html
- Cornell University: http://www.ehs.cornell.edu/

No Anexo encontra-se uma lista em que estão apresentadas algumas substâncias químicas carcinogênicas. Deve-se ressaltar que ela não está completa, de modo que é recomendável consultar as últimas publicações pertinentes. O fato de determinada substância não estar presente na lista não significa, em hipótese alguma, que não seja necessariamente carcinogênica.

Obtenção de dados de segurança relativos ao uso de carcinogênicos

Uma vez realizado o levantamento das substâncias carcinogênicas em uso no laboratório, sugere-se que se obtenham dados de segurança relativos ao seu emprego. Esse tipo de informação pode ser encontrado no assim denominado *Material Safety Data Sheet* (MSDS), que corresponde a fichas de segurança química. Mais especificamente, esse tipo de documento contém informações quanto aos aspectos toxicológicos da substância (vias de exposição, sintomas da exposição etc.), cuidados no uso (tipo de luva que deve ser utilizado, necessidade de capela, óculos de proteção etc.), propriedades químicas, regulamentação do uso, entre outras. As empresas produtoras de reagentes químicos fornecem os MSDS com o próprio produto.

Os MSDS também podem ser obtidos nos seguintes sites:

- Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH), Estados Unidos – http://www.cdc.gov/niosh/ipcs/nicstart.html

- Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR), Estados Unidos – http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html#-M-
- Oxford University – http:/www.physchem.ox.ac.uk/msds/
- Cornell University – http://msds.pdc.cornell.edu/msdssrch.asp

ANÁLISE DOS RISCOS DO TRABALHO QUE ENVOLVE CARCINOGÊNICOS

É recomendável realizar uma avaliação dos procedimentos laboratoriais envolvidos com carcinógenos, de modo a determinar os riscos envolvidos e estabelecer os controles adequados. Os riscos e os controles dependerão das características toxicológicas do agente carcinogênico e da complexidade das operações em que ele é utilizado.

Alguns aspectos que precisam ser considerados incluem, por exemplo:

- Agente carcinogênico
  - propriedades físicas que possam aumentar sua dispersão e promover sua entrada no organismo por superfícies contaminadas. O uso de substâncias sólidas na forma de blocos pode não demandar eventualmente o uso de capela, ao contrário do emprego de substâncias que se encontram na forma de pós finos ou de gás, por exemplo.
- Operações
  - a quantidade de carcinógeno utilizada.
  - a duração e a frequência das exposições.
  - a via de exposição (aérea, pele, ingestão, subcutânea ou combinações).
  - aspectos do processo que podem aumentar o potencial de exposição, como moer um sólido, aquecer um líquido até sua evaporação, espalhar o material sobre superfícies.



Figura 6. Exemplo de símbolo para a identificação da área de trabalho com carcinogênicos, utilizados pelo Laboratório Nacional Lawrence Livermoore (LLNL) da Universidade da Califórnia, EUA.
Fonte: LLNL, 2000

Identificação das áreas do laboratório em que os carcinogênicos são utilizados

É recomendável que todas as áreas do laboratório em que os carcinogênicos são utilizados sejam identificadas com símbolo apropriado. Isso inclui capelas, bancadas, geladeiras, armários etc. Um exemplo de símbolo utilizado para tal finalidade é o adotado pelo Laboratório Nacional Lawrence Livermoore da Universidade da Califórnia, Estados Unidos (Figura 6).

Armazenamento de agentes carcinogênicos

Quando possível, deve-se adquirir apenas a quantidade de carcinógeno que atenda as necessidades e de forma fracionada. Assim, por exemplo, em vez de adquirir um frasco de 1 kg de uma substância carcinogênica, recomenda-se adquirir dois frascos de 500 g ou quatro de 250 g. Assim, em caso de derramamento acidental, o manipulador estaria exposto a uma quantidade reduzida do carcinógeno.

Caso seja necessária a aquisição de grande quantidade de carcinógenos, recomenda-se o seu armazenamento em um almoxarifado, ou local apropriado, distante do local de circulação de pessoas.

Os agentes carcinogênicos químicos devem ser mantidos em suas embalagens originais. Em alguns tipos de compostos, a embalagem original apresenta atmosfera modificada, que reduz eventuais reações de oxidação e prolonga a validade do produto. Além disso, a embalagem original é constituída por materiais que são inertes ao carcinógeno.

Para fins de controle, é interessante colocar uma pequena etiqueta com uma identificação no produto, sem cobrir o rótulo original. Assim é possível manter um registro, seja em um caderno ou uma planilha eletrônica, da quantidade de carcinógenos armazenados. Dessa maneira, evitaria que o local de armazenamento fosse vistoriado desnecessariamente, como no caso para verificar se há carcinógeno suficiente para utilização em um experimento ou análise.

O armário destinado ao armazenamento de agentes carcinogênicos no laboratório deverá ser específico para substâncias tóxicas e adequadamente identificado. Assim, deverá ter saídas de ventilação e recomenda-se que tenha portas de vidro. No caso de substâncias que necessitem de refrigeração, estas devem ser armazenadas em prate-

leiras reservadas para carcinógenos em uma geladeira específica para laboratórios, com portas de vidro. No caso de agentes carcinogênicos higroscópicos, estes devem permanecer em dessecadores exclusivos, ou seja, sem compartilhamento com outros reagentes. Recomenda-se que no laboratório, uma pessoa seja responsável pelo controle do uso e da armazenagem dos carcinógenos.

Como qualquer reagente, deve-se observar a compatibilidade química na armazenagem de substâncias carcinogênicas.

Manipulação de agentes carcinogênicos

Apenas o pessoal capacitado do laboratório deverá ser autorizado a manipular agentes carcinogênicos. Deve-se considerar que os experimentos deverão ser planejados de forma a gerar a menor quantidade possível de resíduos que possam ser carcinógenos.

Ao manipular agentes carcinogênicos, deve-se ter em mente que a exposição a eles pode ocorrer pela inalação de poeiras ou vapores, contato com a pele, ingestão acidental ou de alimentos contaminados. Pode ainda ocorrer que produtos cosméticos facilitem a absorção de carcinógenos gasosos ou particulados pela pele.

Portanto, são válidas as boas práticas no laboratório, segundo as quais é proibido beber, comer ou aplicar cosméticos nesse ambiente. Além disso, não se deve armazenar alimentos, bebidas e cosméticos em locais onde carcinógenos são utilizados e armazenados.

A manipulação dos agentes carcinogênicos deverá ser efetuada seguindo-se os procedimentos estabelecidos e previamente aprovados pelo responsável pelo laboratório, nas áreas especificadas para tal finalidade. Esses procedimentos devem estar documentados com base nos dados de segurança relativos ao uso de carcinogênicos e na análise de risco realizada.

A quantidade utilizada deverá ser apenas a necessária. Assim, no momento da utilização, o carcinógeno deverá ser fracionado em alíquotas, que devem adequadamente ser identificadas. Sugere-se a utilização de uma etiqueta específica, informando o nome da substância e da pessoa que a preparou, a data da manipulação e o nome do laboratório ao qual pertence. É interessante, também, constar o número do telefone do laboratório na etiqueta. Recomenda-se a utilização de frascos âmbar de vidro borossilicato com sistema antigotejamento, com tampa rosqueável.

No caso de alíquotas de volumes reduzidos, com menos de 1 mL, recomenda-se a utilização de tubos de microcentrífuga de fundo chato, com tampa rosqueável. É importante que a tampa seja desse tipo, já que reduz o risco de respingos quando o tubo é aberto. Os tubos com as alíquotas devem ser armazenados em caixas específicas, devidamente identificadas.

O manuseio de carcinogênicos na bancada pode ser realizado apenas quando for apropriado. Algumas situações em que essa situação pode ocorrer incluem: o material não libera partículas ou forma aerossóis; ao utilizar soluções diluídas de carcinogênicos com concentrações inferiores a 0,1%; ou ao pesar por dia menos de 1 g de carcinógeno na forma de pó seco em uma balança com portas.

Nessas situações, as superfícies de bancadas em que se manipularão os carcinogênicos deverão ser cobertas, por exemplo, por material absorvente sobre material plástico, que deverão ser trocados periodicamente ou de imediato em caso de derramamento. Assim, minimiza-se a contaminação da área de trabalho e facilita-se sua limpeza.

Por outro lado, todas as operações que envolvam poeiras, vapores ou aerossóis de característica carcinogênica deverão ser realizadas de forma a evitar que a contaminação do pessoal ocorra. Na maioria dos casos, faz-se necessário o uso de capela. Nesse sentido, ressalta-se que seu emprego constitui a melhor forma de proteção contra a exposição a carcinogênicos, devendo ser utilizada sempre que possível.

Experimentos com animais

Recomenda-se que animais tratados com carcinogênicos sejam isolados. As gaiolas devem ser identificadas adequadamente. Considerações específicas devem ser feitas quanto à administração de tais compostos, ou mesmo daqueles com atividade biológica desconhecida. Substâncias voláteis representam o maior risco e devem, quando possível, ser administradas por injeção. A administração de carcinogênicos voláteis por meio de ração ou água é extremamente difícil, de modo que, a menos que seja estritamente necessário, sugere-se utilizar outros métodos de administração.

Equipamentos de proteção individual (EPI)

É preciso usar sempre aventais de laboratório, óculos de segurança, luvas e sapatos, de forma a evitar o contato das roupas e da pele com o carcinogênico. Em alguns casos é necessário o uso de respirador com filtro adequado.

O avental deverá ser de manga longa e usado apenas nas áreas em que o carcinógeno é manipulado. Na maior parte dos casos, o avental de algodão ou de microfibra é suficiente para proteção contra substâncias carcinogênicas, quando manipuladas em quantidades reduzidas (menos de 1 g por dia ou em soluções com concentrações menores do que 0,1% de carcinógeno). Manipulação de quantidades maiores requer a utilização de vestimentas adequadas, como aventais confecciona-

dos com camadas de filme microporoso intercaladas com poliéster[42].

A seleção das luvas a serem utilizadas deverá ser realizada em função das características do carcinogênico, bem como dos diluentes, solventes e outros materiais em uso. Recomendam-se luvas nitrílicas, já que apresentam grande resistência a diversos reagentes químicos. De qualquer forma, os MSDS informam com maiores detalhes os tipos de luvas adequadas. Recomenda-se a troca regular das luvas de forma a evitar suas impregnações com o carcinogênico[42].

Os óculos de segurança a serem utilizados devem apresentar lentes transparentes confeccionadas de material resistente e leve, como o acrílico.

Quando o carcinógeno é volátil, é necessária a utilização de respirador. Este deve apresentar filtro adequado para a operação em que será utilizado. A seleção do filtro do respirador deverá ser feita de acordo com vários critérios, que incluem: a substância a ser manipulada e a provável concentração dessa substância e de oxigênio no ambiente de trabalho (existem tabelas fornecidas pelos fabricantes de respiradores que auxiliam nesses cálculos). É importante que o respirador tenha proteção facial.

Quanto aos sapatos, recomenda-se que sejam totalmente fechados e de couro, já que esse material fornece boa resistência mecânica e química.

O equipamento de proteção individual deverá ser mantido em área adjacente ao local de trabalho, não devendo ser levado para outras áreas do laboratório. É importante ressaltar que a limpeza dos EPI deverá ser realizada pelo próprio usuário, já que ele teve contato com o carcinógeno e por isso conhece seus riscos e a melhor forma de descontaminação.

Descontaminação de carcinogênicos

A princípio, o uso rotineiro de carcinógenos não deve exigir procedimentos de descontaminação pessoal. Após o uso de qualquer agente carcinogênico, deve-se sempre lavar bem as mãos com água fria e, em seguida, com sabão e água quente.

No caso de contaminação de bancadas de trabalho, estas deverão ser limpas com água fria e em seguida, com água quente e detergente. Além disso, independentemente de contaminação, as bancadas em que se manipulou algum carcinógeno deverão ser limpas da mesma forma, regularmente.

Vidrarias ou equipamentos contaminados ou que apresentem resíduos de carcinógenos, devem ser descontaminados segundo procedimentos apropriados para o carcinogênico em questão. Em seguida, o material deverá ser lavado com água fria e, a seguir, com água quente e detergente. Finalmente, o material deverá ser lavado, seguindo-se o procedimento básico do laboratório.

Alguns métodos que realizam a descontaminação de materiais de laboratório e resíduos são apresentados a seguir[43]:

- Compostos orgânicos, incluindo agentes carcinogênicos, podem ser descontaminados com solução saturada de dicromato de sódio em ácido sulfúrico. Um ou dois dias são considerados suficientes para a inativação dos carcinógenos, considerando-se que a solução tenha sido recentemente preparada.
- Carcinógenos que se oxidam facilmente podem ser inativados com solução saturada de permanganato de potássio em acetona. Essa solução é adequada para agentes carcinogênicos como hidrazinas ou compostos que contêm duplas-ligações isoladas. Soluções de hipoclorito de sódio concentrado (acima de 50%) também podem ser utilizadas como agentes oxidantes.
- Agentes carcinogênicos que são alquilantes, arilantes ou acilantes podem ser inativados com reações de nucleófilos como a água, íons hidroxila, amônia, tióis e tiossulfato. As reações podem ser facilitadas pela dissolução dos agentes em etanol ou solventes similares. Metilmetanosulfonato e etilmetanosulfonato são moderadamente solúveis em água e podem ser inativados em soluções de tiossulfato a 10%. No entanto, alguns cuidados especiais são necessários em se tratando de grandes quantidades (um grama ou mais) desses compostos ou outros altamente reativos, uma vez que reações violentas podem ocorrer. Nesses casos, é preferível utilizar maiores volumes de soluções aquosas de bicarbonato.
- Etileneimina e seus derivados podem ser inativados por hidrólise catalisada por ácido ou por tampão de tiossulfato em pH 5.
- A ciclofosfamida pode ser inativada com solução saturada de hidróxido de potássio em metanol.
- A N-Metil-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidina (MNNG) é rapidamente inativada em uma solução de tiossulfato de sódio a 10%. O tratamento da MNNG e nitrosamidas relacionadas (N-nitrosometilureia e N-nitrosoetilureia) com álcalis deve ser evitado ou conduzido com bastante cuidado, por causa da produção do gás tóxico diazometano.
- A N-nitrosodimetilamina pode ser inativada pela solução saturada de dicromato de sódio em ácido sulfúrico. Pode, ainda, ser reduzida pelas combinações de zinco e ácido acético ou alumínio e hidróxido de sódio. Forma-se, assim, o carcinogênico dimetilidrazina, que deve ser, então, oxidado em uma solução de permanganato de potássio saturado em acetona, por exemplo. Nitrosaminas podem também ser decompostas em nitritos e aminas pela ação de ácido hidrobrômico e ácido acético.

- Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos como o benzopireno podem ser inativados pela solução saturada de dicromato de sódio em ácido sulfúrico.
- Aflatoxinas podem ser inativadas pelo acréscimo de solução de hipoclorito ao material a ser descontaminado, seguida da adição de acetona para a destruição da 2,3-dicloro aflatoxina B1 que tenha eventualmente se formado.

Considerando-se a periculosidade de alguns dos procedimentos de descontaminação comentados anteriormente, recomenda-se que, previamente à sua realização, as seguintes referências sejam consultadas.

- As publicações da IARC da série "Laboratory destruction of carcinogens in laboratory wastes".
- Armour MA, Bacovsky RA, Brown LM, McKenzie PA, Renecker DM. Potentially carcinogenic chemicals (including some antineoplastic agents): information and disposal guide. Alberta: University of Alberta Press, 1986.

Descarte de carcinógenos

Os resíduos contaminados com carcinógenos só podem ser realizados após a sua descontaminação.

Assim, resíduos líquidos contaminados por carcinógenos devem ser armazenados temporariamente em recipientes plásticos de polietileno de alta densidade com tampa rosqueável. Sugere-se que se utilize um frasco para cada tipo de resíduo líquido produzido. O recipiente deve estar armazenado em local que não apresente risco de derramamento e próximo do local de manipulação dos carcinógenos.

Convém ressaltar que resíduos que contêm carcinógenos não devem ser descartados em pias ou ralos.

No caso de resíduos sólidos, recomenda-se o mesmo procedimento, ou seja, armazenamento em recipiente plástico de polietileno de alta densidade com tampa rosqueável. Luvas ou aventais que tiveram contato direto com os carcinógenos, como, por exemplo, em uma situação de derramamento, devem ser descartados como resíduos sólidos. Em situações de rotina, em que o agente carcinogênico não esteve em contato direto com as luvas, estas devem ser descartadas como lixo infectante (hospitalar).

O recipiente para descarte de resíduos carcinogênicos deve ser identificado adequadamente.

Emergências com o envolvimento de carcinogênicos

No caso de contaminação significativa do ambiente de trabalho por carcinógenos (sobretudo os voláteis), o local deverá ser evacuado e fechado. O responsável pelo laboratório, o restante do pessoal e os membros da comissão interna de prevenção de acidentes (Cipa) deverão ser imediatamente informados. Nessas situações, não se deve tentar resolver o problema sozinho. É importante que se procure ajuda especializada para lidar com o caso. Dependendo da situação, deve-se entrar em contato com empresas especializadas em emergências químicas.

Em caso de contaminação pela pele com carcinógeno, a região afetada deverá ser lavada com água fria por pelo menos 5 minutos. Em seguida, a região deverá ser lavada vigorosamente com sabão e água aquecida. Caso seja necessário, o indivíduo envolvido tomará um banho e trocará suas roupas e calçados.

Em caso de contaminação dos olhos, estes devem ser lavados imediatamente com água fria corrente por, no mínimo, 15 minutos. Em ambos os casos, recomenda-se procurar orientação médica.

Criação de procedimentos para diversos aspectos do uso de carcinogênicos

É importante que se encontrem documentados todos os procedimentos que devem ser seguidos para o desenvolvimento das atividades relacionadas a diversos aspectos do uso de substâncias carcinogênicas. O emprego de procedimentos operacionais padrão (POP) constitui uma opção nesse sentido. Assim, é possível obter instruções quanto ao desenvolvimento de um POP específico para o uso de carcinógenos no site da Cornell University (http://www.ehs.cornell.edu/).

TREINAMENTO DO PESSOAL

Antes de trabalhar com substâncias carcinogênicas, o indivíduo deverá receber treinamento para desempenhar adequadamente todas as atividades envolvidas com o uso de reagentes químicos. Nesse sentido, deverá ser dada ênfase aos riscos relacionados ao trabalho com esse tipo de composto, e também aos cuidados de segurança que devem ser tomados.

Após o primeiro treinamento, o indivíduo deverá receber treinamentos posteriores periódicos, de modo a renovar seus conhecimentos a respeito do uso seguro de carcinogênicos.

É importante ressaltar que o uso correto dos procedimentos estabelecidos é fundamental para que o risco relacionado com o trabalho que envolve agentes carcinogênicos seja efetivamente minimizado. Dessa forma, a percepção desse fato por todos os integrantes do laboratório torna-se de extrema importância.

Reavaliação dos procedimentos adotados referentes ao uso seguro de carcinogênicos

É importante que os procedimentos estabelecidos para o uso seguro de carcinogênicos sejam reavaliados periodicamente. Dessa forma, é possível corrigir possíveis imperfeições existentes e melhorar os procedimentos atuais. Sugere-se, por exemplo, que se procurem identificar novos carcinógenos em uso no laboratório com uma periodicidade estabelecida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Inca. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2010-Incidência de Câncer no Brasil. [Online]. Disponível: http://www.inca.gov.br/estimativa2010/. Acesso em: 1/4/2011.
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Formand D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61:69-90.
3. Greenwald ED, Greenwald ES. Cancer epidemiology. Medical Examination Publ. New Hyde Park, Nova York, 1983. Apud: Hazelwood RN. Carcinogen risk assessment. Advances in Food Research 1987;31:1-51.
4. Higginson J, Muir CS. Determination of the importance of environmental factors in human cancer: the role of epidemiology. Bull Cancer. 1977;64:365-84.
5. Carpenter DO, Arcaro K, Spink DC. Understanding the human health effects of chemical mixtures. Environ Health Perspect. 2002;110(Suppl 1):25-42.
6. Siemiatycki J, Richardson L, Straif K, Latreille B, Lakhani R, Campbell S, et al. Listing occupational carcinogens. Environ Health Perspect. 2004;112:1447-59.
7. Irigaray P, Belpomme D. Basic properties and molecular mechanisms of exogenous chemical carcinogens. Carcinogenesis. 2010;31:135-48.
8. Farber E. Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. Cancer Res., 1995; 55:3759-62.
9. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. Trends Genet. 1993;9:138-41.
10. Pitot HC, Dragan YP. Facts an theories concerning the mechanisms of carcinogenesis. Faseb J. 1991;5:2280-6.
11. Klaunig JE, Kamendulis LM, Hocevar BA. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. Toxicol Pathol. 2010;38:96-109.
12. Harris CC, Autrup H, Connor R, Barrett LA, Mcdowell EM, Trump BF. Interindividual variation in binding of benzo[a]pyrene to DNA in cultured human bronchi. Science. 1976;194:1067-9.
13. Spivack SD, Hurteau GJ, Fasco MJ, Kaminsky LS. Phase I and II carcinogen metabolism gene expression in human lung tissue and tumors. Clin Cancer Res. 2003;9(16 Pt 1):6002-11.
14. Mohrenweiser HW, Wilson DM, Jones IM. Challenges and complexities in estimating both the functional impact and the disease risk associated with the extensive genetic variation in human DNA repair genes. Mutat Res. 2003;526:93-125.
15. Tessema M, Lehmann U, Kreipe H. Cell cycle and no end. Virchows Arch. 2004;444:313-23.
16. Malumbres M, Barbacid M. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. Nat Rev Cancer. 2001; 3:222-31.
17. Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. Nat Rev Cancer. 2004;4:592-603.
18. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. Nat Rev Cancer. 2002;2:277-88.
19. Sercu S, Zhang L, Merregaert J. The extracellular matrix protein 1: its molecular interaction and implication in tumor progression. Cancer Invest. 2008;26:375-84.
20. Raynaud CM, Sabatier L, Philipot O, Olaussen KA, Soria JC. Telomere length, telomeric proteins and genomic instability during the multistep carcinogenic process. Crit Rev Oncol Hematol. 2008;66:99-117.
21. Salnikow K, Zhitkovich A. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. Chem Res Toxicol. 2008;21:28-44.
22. Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal-counterparts. Nature. 1983;301:89-92.
23. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer. 2004;4:143-53.
24. Trosko JE, Upham BL. The emperor wears no clothes in the field of carcinogen risk assessment: ignored concepts in cancer risk assessment. Mutagenesis. 2005;20:81-92.
25. Robertson KD, Jones PA. DNA methylation: past, present and future directions. Carcinogenesis. 2000;21:461-7.
26. Esteller M. Cancer epigenetics: DNA methylation and chromatin alterations in human cancer. Adv Exp Med Biol. 2003; 532:39-49.
27. Herman JG. Hypermethylation pathways to colorectal cancer. Implications for prevention and detection. Gastroenterol Clin North Am. 2002;31:945-58.
28. Fischle W, Wang Y, Allis CD. Binary switches and modification cassettes in histone biology and beyond. Nature. 2003;425:475-9.
29. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. Nature. 1997;389:349-52.
30. Chung D. Histone modification: the 'next wave' in cancer therapeutics. Trends Mol Med. 2002;8:S10-1.
31. Vainio H. Carcinogenesis and its prevention. In: Stacey NH, Winder C. Occupational Toxicology. London: Taylor & Francis, 2004, 602p.
32. Lee JE, Chan AT. Fruit, vegetables, and folate: cultivating the evidence for cancer prevention. Gastroenterology. 2011;141:16-20.
33. CDC. Center for Disease Control and Prevention. [Online]. Disponível em: http://www.cdc.gov/nutrition/. Acesso em: 1/4/2011.
34. Rachet B, Partanen T, Kauppinen T, Sasco AJ. Cancer risk in laboratory workers: an emphasis on biological research. American Journal of Industrial Medicine. 2000;38:651-65.
35. Sasco AJ. Cancer risk in laboratory workers. Lancet. 1992;339.
36. Belli S, Comba P, De Santis M, Grignoli M, Sasco A. Mortality study of workers employed by the Italian Natio-

nal Institute of Health, 1960-89. Scand J Work Environ Health. 1992;18:64-7.
37. Apostoli P, Lucchini R, Alessio L. Proposal of a method for identifying exposure to hazardous chemicals in biomedical laboratories. Clinica Chimica Acta. 1996;256:75-86.
38. Dement JM, Cromer JR. Cancer and reproductive risks among chemists and laboratory workers: a review. Applied Occupational and Environmental Hygiene. 1992;7:120-6.
39. Gustavsson P, Reuterwall C, Sadigh J, Soderholm M. Mortality and cancer incidence among laboratory technicians in medical research and routine laboratories (Sweden). Cancer Causes Control. 1999;10:59-64.
40. CAREX. Carcinogen Exposure Report of EU. [Online]. Disponível em: http://www.occuphealth.fi/list/data/CAREX. Acesso em: 7/9/2011.
41. Risk Management Office, University of Sidney, Australia. Guidelines for using carcinogenic substances. [Online]. Disponível em: www.usyd.edu.au/su/ohs/carcing/.html. Acesso em: 7 dede março de 2011].
42. Occupational Safety & Health Administration (OSHA). USA. Osha Regulations (Standards – 29 CFR) – Osha Laboratory Standard: Occupational Exposure to Hazardous Chemicals in Laboratories – 1910.1450, 1990. [Online]. Disponível em: http://www.osha-slc.gov/OshStd_data/1910_1450.html. Acesso em: 10/3/2001].
43. Armour MA, Bacovsky RA, Brown LM, McKenzie PA, Renecker DM. Potentially carcinogenic chemicals (including some antineoplastic agents): information and disposal guide. Alberta: University of Alberta Press; 1986.

ANEXO

Lista de algumas substâncias químicas carcinogênicas*

acetaldeído	ciclofosfamida
asbestos	daunomicina
2-acetilaminofluoreno	2,4 – diaminoanisol
acrilonitrila	2,4 – diaminotolueno
acrilamida	3,3'– dicloro – 4,4'– diaminofenil éter
adriamicina	4,4'– Metileno bis (2-cloroanilina)
aflatoxinas	dietilidrazina
p-aminoazobenzeno	1,1 – dimetilidrazina
o-aminoazobenzeno	1,2 – dimetilidrazina
4-aminobifenil	dimetilsulfato
arsênio e seus compostos	óxido de etileno
benzeno	óxido de propileno
benzidina	formaldeído
N,N'– diacetilbenzidina	2 – naftilamina
3,3'– diclorobenzidina	níquel e seus compostos
3,3'– dimetoxibenzidina	bis (cloroetil) nitrosureia (BCNA)
3,3'– dimetilbenzidina	1 – (2 – cloroetil) – 3 – cicloexil –1 – nitrosoureia (CCNU)
berílio e seus compostos	N – etil – N – nitrosoureia
N,N – bis (2-cloroetil)-2-naftilamina	N – metil – N'– nitro – N – nitrosoguanidina (MNNG)
bis(clorometil) éter	N – metil – N – nitrosoureia
1,4 –Butanodiol dimetanosulfonato	N – nitrosodimetilamina
b – butirolactona	N– nitrosodietilamina
cádmio e seus compostos	benzantraceno
clorambucil	benzopireno
4 – cloro – o – toluidina	dibenzoantraceno
4 – cloro – fenilenodiamina	estireno
cromo hexavalente e seus compostos	cloreto de vinila
cisplatina	

capítulo 10

Legislação aplicada às atividades desenvolvidas em laboratórios de ensino e pesquisa

Yara Maria Lima Mardegan

INTRODUÇÃO

A biossegurança no Brasil define competências, mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados, questões relativas a pesquisas científicas com células-tronco embrionárias, e estabelece normas de segurança conforme a Lei de Biossegurança n. 11.105 de 24.03.2005[1] que veio revogar a Lei n. 8.974, de 05.01.1995. Esta Lei consolida a legislação existente, regulamentando a produção, comercialização e fiscalização destes mesmos OGM, e estabelece diretrizes e competências, de cada órgão.

Embora o foco da Lei n. 11.105 seja os riscos relativos às técnicas de manipulação de OGM, a biossegurança está presente nos ambientes de clínicas, hospitais, laboratórios de análises clínicas, consutórios médicos e dentários, universidades, indústrias etc., no sentido da prevenção dos riscos gerados pelos agentes químicos, físicos e ergonômicos, envolvidos em processos em que o risco biológico se faz presente ou não. Esta é a vertente da biossegurança, que, na realidade, se confunde com a engenharia de segurança, a medicina do trabalho, a saúde do trabalhador, a higiene industrial, a engenharia clínica e a infecção hospitalar[2-4].

Segundo Hirata, no Capítulo 1 – "O laboratório de ensino e pesquisa e seus riscos", a biossegurança não pode, neste caso, ser restrita aos cuidados com os OGM, embora mereçam destacada atenção, mas deve ter uma abordagem mais ampla da segurança geral para todos os envolvidos no ambiente de pesquisa ou em serviços de apoio, adotando-se tendo o termo *biossegurança* como fundamento básico para assegurar o avanço dos processos tecnológicos e proteger a saúde humana, animal e o meio ambiente.

Para Szklarowsky, o "meio ambiente, na expressão legal, é o conjunto de condições, leis, influências e interações de ordem física, química e biológica que abriga e rege a vida em todas as suas formas."[5]

Com este entendimento de biossegurança, agrupamos e organizamos, de forma sucinta, os documentos legais que normatizam as atividades laboratoriais citadas pelos autores: Legislação Geral, Normas Técnicas (NBR), Normas Regulamentadoras de Segurança e Saúde no Trabalho e Legislação específica para o trabalho com OGM.

A compreensão da legislação aplicável às atividades desenvolvidas na Instituição de Ensino e Pesquisa é ponto fundamental para os dirigentes, professores, pesquisadores e funcionários que irão desenvolver e/ou gerenciar as pesquisas e os laboratórios, sempre visando à segurança e à proteção pessoal e do meio ambiente[6].

De forma mais aprofundada, tratamos legislação como relativa às atividades que envolvem a manipulação com OGM e seus derivados, indicando procedimentos e rotinas que podem auxiliar a gestão de atividades que compete à Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) das organizações – órgão de extrema relevância para o controle, acompanhamento, fiscalização no âmbito interno, além de ser o elo entre a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) e a instituição que representa.

Trazemos, também, sugestões ao leitor para a aplicação e acompanhamento da legislação, estabelecimento de rotinas que podem auxiliar na gestão de documentos e também servir de subsídio inicial para a identificação, avaliação e aprofundamento dos requisitos legais, lembrando que deverá ser considerada a permanente renovação dos diplomas legais e a especificidade da legislação complementar de cada região do país.

Atuar em conformidade com a legislação constitui a principal garantia que uma organização possui para o desenvolvimento e o gerenciamento de suas atividades de forma consciente e responsável[7].

LEGISLAÇÃO GERAL

Preocupados, os órgãos governamentais, os cientistas e as entidades voltadas à preservação do meio ambiente têm realizado estudos direcionados a fim de obter a diminuição dos impactos ambientais e impedir a degradação da natureza, implementando mecanismos legais de proteção[1,8-10].

Os diplomas legais abordados neste tópico relacionam-se às atividades práticas diárias que permeiam os laboratórios de ensino e pesquisa da área da saúde, visando estabelecer normas para a segurança do homem e para a adequada manipulação de agentes infecciosos, substâncias químicas perigosas e seu comprometimento com sua correta eliminação no meio ambiente. Neste item são, portanto, apresentadas as diretrizes que normatizam as práticas em laboratórios na área de saúde. São ainda acrescentadas outras legislações pertinentes ao assunto, que também poderão subsidiar o leitor em sua consulta.

Legislação Federal

Lei n. 2.063, de 6.10.1983 – Dispõe sobre multas a serem aplicadas por infrações e regulamentação para a execução do serviço de transporte rodoviário de cargas ou produtos perigosos e dá outras providências[11].

Lei n. 7.802, de 11.7.1989 – Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências[11].

Lei n. 9.605, de 12.2.1998 – Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências[12].

Lei n. 9.795, de 27.4.1999 – Dispõe sobre a educação ambiental, institui a Política Nacional de Educação Ambiental e dá outras providências[13].

Decreto n. 26.465, de 10.7.1934 – Dispõe que são tutelados ao Estado todos os animais existentes no País e determina sanções àquele que, em lugar público ou privado, aplicar ou fazer aplicar maus tratos aos animais[12].

Decreto n. 96.044, de 18.5.1988 – Aprova o regulamento para o transporte rodoviário de produtos perigosos e dá outras providências[11].

Decreto n. 98.816, de 11.1.1990 – Regulamenta a Lei n. 7.802, de 11.7.1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências[11].

Decreto n. 2.519, de 16.3.1998 – Promulga a Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada no Rio de Janeiro, em 5 de junho de 1992[11].

Decreto n. 3.179, de 12.2.1998 – Regulamenta a Lei Federal n. 9.605 e estabelece punições com as sanções do presente diploma legal, sem prejuízo da aplicação de outras penalidades previstas na legislação[12].

Decreto Legislativo n. 2, de 3.2.1994 – Aprova o texto da Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento realizada na cidade do Rio de Janeiro, no período de 5 a 14 de junho de 1992[11].

Decreto n. 6.899, de 15.7.2009 – Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA), mediante a regulamentação da Lei n. 11.794, de 8.10.2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências[14].

Portaria n. 16/Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, de 6.3.1995 – Determina a todos os estabelecimentos produtores de medicamentos o cumprimento das diretrizes estabelecidas pelo

"Guia de Boas Práticas de Fabricação para Indústrias Farmacêuticas", aprovado na 28ª Assembleia Mundial de Saúde em maio de 1975 (WHA, 28.65), conforme o Anexo I da presente Portaria[15].

Portaria n. 348/Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, de 18.8.1997 – Determina a todos os estabelecimentos produtores de medicamentos o cumprimento das diretrizes estabelecidas pelo "Guia de Boas Práticas de Fabricação para Indústrias Farmacêuticas", aprovado na 28ª Assembleia Mundial de Saúde em maio de 1975 (WHA, 28.65), conforme o Anexo I da presente Portaria[15].

Portaria n. 451/Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, de 19.9.1997 – Aprova os princípios gerais para estabelecimento de "Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos"[16].

Portaria Ministério da Saúde-GM n. 1.884, de 11.11.1994 – Aprova as normas para projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde, a serem observadas nas construções novas, nas áreas a serem ampliadas e nas reformas de estabelecimentos já existentes.

Sobre resíduos se serviço de saúde: dispõe que quanto à infra-estrutura predial – o dimensionamento do abrigo de resíduos refere-se à NBR 12.809/93 e a sala de resíduos deve estar disponível, uma por unidade, com dimensão mínima de 4 m^2, conforme NBR 12.809/93[17].

Portaria Interministerial n. 482/Ministério da Saúde/Ministério do Trabalho e Emprego, de 16.4.1999 – Aprova o Regulamento Técnico e seus anexos, objeto desta Portaria, com disposições sobre os procedimentos de instalações de Unidades de Esterilização por óxido de etileno e de suas misturas e seu uso, bem como, de acordo com suas competências, estabelece as ações sob a responsabilidade do Ministério da Saúde e Ministério do Trabalho e Emprego[16].

Resolução da Diretoria Colegiada n. 33/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, de 19.4.2000 – Aprova o Regimento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em Farmácias e Anexos[15].

Resolução da Diretoria Colegiada n. 9/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, de 9.3.2011 – Dispõe sobre o funcionamento dos Centros de Tecnologia Celular para fins de pesquisa clínica e terapia e dá outras providências[18].

Resolução CNEN n. 19, de 17.12.1985. NE-6.05 – Estabelece critérios gerais e requisitos básicos relativos à gerência de rejeitos radioativos em instalações radioativas. Apresenta em seu escopo a classificação dos rejeitos com emissores beta e gama e com emissores alfa, líquidos e sólidos, bem como os requisitos gerais de Gerência de Rejeitos, ou seja, a segregação, o acondicionamento e a identificação. Especifica os critérios a serem seguidos quanto a transporte, armazenamento provisório e eliminação de rejeitos radioativos. Apresenta os limites a serem seguidos no tocante à eliminação de rejeitos líquidos, sólidos e gasosos de uma instalação, condicionada à obtenção de parecer baseado na análise dos fatores ambientais pertinentes[11].

Resolução CNS n. 196, de 10.10.1996 – O Conselho Nacional de Saúde Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos[19].

Resolução CONAMA n. 6, de 15.6.1988 – Desobriga a incineração ou qualquer outro tratamento de queima de resíduos sólidos provenientes dos estabelecimentos de saúde, portos e aeroportos, ressalvados os casos previstos em lei e acordos internacionais[20].

Resolução CONAMA n. 5, de 5.8.1993 – Define procedimentos mínimos para o gerenciamento de resíduos como: definições de resíduos sólidos, plano de gerenciamento, tratamento e disposição; classificação dos resíduos; responsabilidade dos estabelecimentos pelo gerenciamento dos resíduos; apresentação do plano de gerenciamento; responsabilidade técnica pelo gerenciamento dos resíduos; acondicionamento; transportes; sistemas de tratamento; tratamento obrigatório para resíduos do grupo A; tratamento específico para resíduos do grupo B; coleta, tratamento e disposição final de resíduos do grupo D etc.

Rejeitos radioativos deverão obedecer às exigências da CNEN[20].

Resolução CONAMA n. 358/2005, de 29.4.2005 – "Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências." – Data da legislação: 29/04/2005 – Publicação DOU n. 084, de 04.05.2005, págs. 63-65[21].

Legislação do Estado de São Paulo

Lei Estadual n. 9.509, de 20.3.97 – Dispõe sobre a Política Estadual do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação[22].

Lei n. 12.300, de 16.3.2006 – Institui a Política Estadual de Resíduos Sólidos e define princípios e diretrizes, objetivos, instrumentos para a gestão integrada e compartilhada de resíduos sólidos, com vistas à prevenção e ao controle da poluição, à proteção e à recuperação da qualidade do meio ambiente, e à promoção da saúde pública, assegurando o uso adequado dos recursos ambientais no Estado de São Paulo[22].

Decreto Estadual n. 8.468, de 8.9.1976 – Aprova o Regulamento da Lei n. 997, de 31.5.1976, que dispõe sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente[22].

Decreto n. 54.645, de 5.8.2009, Regulamenta dispositivos da Lei n. 12.300 de 16 de março de 2006, que institui a Política Estadual de Resíduos Sólidos, e altera o inciso I do artigo 74 do Regulamento da Lei n. 997, de 31.5.1976, aprovado pelo Decreto n. 8.468, de 8.9.1976[22].

Portaria Estadual do Centro de Vigilância Sanitária n. 01, de 18.01.2000 – Aprova norma técnica que trata de condições de funcionamento de laboratórios de análises e pesquisas clínicas, patologia clínica e congêneres, dos postos de coleta descentralizados aos mesmos vinculados, regulamenta o procedimento de coleta de material humano realizado nos domicílios dos cidadãos, disciplina o transporte de material humano e dá outras providências[23].

Resolução Conjunta da Secretaria do Estado da Saúde e da Secretaria do Meio Ambiente n. 1, de 29.6.1998 – Aprova diretrizes básicas e regulamento técnico para apresentação e aprovação do plano de gerenciamento de resíduos sólidos de serviços de saúde[22].

Legislação do Município de São Paulo

Lei Municipal n. 10.315, de 30.4.1987 – Dispõe sobre a limpeza pública do Município de São Paulo, disciplina as atividades destinadas ao recolhimento e disposição final dos resíduos sólidos gerados no Município de São Paulo[24].

Lei Municipal n. 10.746 – Introduz modificações na Lei n. 10.315, de 30.4.1987, e dá outras providências no Municipio de São Paulo[24].

Lei Municipal n. 10.142 – Fiscalização dos Serviços de Limpeza Pública no Município de São Paulo[20].

Decreto Municipal n. 35.657, de 9.11.1995 – Dispõe sobre a coleta, transporte e destino final de resíduos sólidos em aterros sanitários ou em incineradores municipais não abrangidos pela coleta regular e dá outras providências no Município de São Paulo[20].

Decreto Municipal n. 37.066, de 15.9.1997 – Regulamenta o inciso IV do art. 3º da Lei n. 10.315, de 30.4.1987, e dá outras providências. Adota definições, orienta o cadastro dos geradores de Resíduos de Serviços de Saúde no Departamento de Limpeza Urbana do Municipio de São Paulo, orienta o seguimento das NBRs 9190 (substituída pela 9191 em julho/2000) e 12809, determina a fiscalização pelo Departamento de Limpeza Urbana dos abrigos externos conforme a NBR 12809 e do acondicionamento apropriado dos resíduos para a coleta[20].

Decreto Municipal n. 37.241, de 17.12.1997 – Regulamenta o inciso VII do art. 4º da Lei n. 10.315 de 30.4.1987 e dá outras providências. Classifica os Resíduos de Serviços de Saúde em alto risco (infectantes, químicos, farmacêuticos e perfurocortantes) e comuns; responsabiliza a prefeitura em coletar, tratar e destinar apenas resíduos de alto risco, adotando o mesmo princípio para os resíduos comuns até o limite de 100 litros; responsabiliza os geradores pela correta segregação (sujeitos à fiscalização pelo órgão de saúde competente) e pelo armazenamento dos resíduos de alto risco e comuns em abrigos independentes e desobriga a prefeitura de coletar, tratar e destinar os resíduos de estabelecimentos que não segregarem os resíduos de alto risco dos demais no Município de São Paulo[20].

Decreto Municipal n. 37.471, de 5.6.1998 – Dispõe sobre critérios de elaboração, análise e implementação do plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, por estabelecimentos geradores desses resíduos, sediados no Município de São Paulo, e dá outras providências[20].

Portaria Municipal n. 102/Secretária do Verde e do Meio Ambiente, de 4.11.1999 – Aprova as diretrizes básicas e o termo de referência para a apresentação e aprovação do plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde do Município de São Paulo[20].

NORMAS TÉCNICAS (NBR)

As normas técnicas NBR são diretrizes elaboradas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). A seguir, são relacionadas as NBR que estabelecem os

requisitos exigidos para manuseio, acondicionamento, tratamento, coleta, transporte e destino final de resíduos dos serviços de saúde[25].

NBR 7.500 – Símbolos de riscos e manuseio para o transporte e armazenamento de materiais

NBR 8.419 – Apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos

NBR 9.190 – Sacos plásticos para acondicionamento de lixo – Classificação

NBR 9.191 – Sacos plásticos para acondicionamento de lixo – Especificação

NBR 9.195 – Sacos plásticos para acondicionamento de lixo – Método de ensaio

NBR 10.004 – Resíduos sólidos – Classificação

NBR 10.005 – Lixiviação de resíduos – Procedimento

NBR 10.006 – Solubilização de resíduos – Procedimento

NBR 10.007 – Amostragem de resíduos – Procedimento

NBR 10.157 – Aterros de resíduos perigosos – critérios para projeto, construção e operação – Procedimento

NBR 12.807 – Resíduos de serviços de saúde – Terminologia

NBR 12.808 – Resíduos de serviços de Saúde – Classificação

NBR 12.809 – Manuseio de resíduos de Saúde – Procedimentos

NBR 12.810 – Coleta de resíduos de saúde – Procedimentos

NBR 12.980 – Coleta, varrição e acondicionamento de resíduos sólidos urbanos – Terminologia

NBR 13.055 – Sacos plásticos para acondicionamento de lixo – Determinação de capacidade volumétrica

NBR 13.056 – Filmes plásticos para sacos plásticos para acondicionamento de lixo – Verificação de transparência. Método de ensaio

NBR 13.221 – Transporte de resíduo

NBR 13.853 – Coletores para resíduos de serviços de saúde perfurantes ou cortantes – Requisitos e métodos de ensaio

NORMAS REGULAMENTADORAS DE SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO

As normas regulamentadoras são dispositivos legais elaborados pelo Ministério do Trabalho e Emprego que determinam as condições adequadas de segurança e saúde de ocupacional no Brasil[26,27].

A Portaria n. 3.214 de 8.6.1978 do Ministério do Trabalho e Emprego aprova as Normas Regulamentadoras (NR) integrantes da Consolidação das Leis do Trabalho (CLT), relativas à Segurança e Medicina do Trabalho. O cumprimento dessas Normas Regulamentadoras é obrigatório pelas instituições privadas e públicas e pelos órgãos públicos de administração direta e indireta, bem como pelos órgãos dos poderes legislativo e judiciário que possuam empregados regidos pela CLT.

NR 4 – Serviços Especializados em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (104.000-6) – Dispõe sobre a obrigatoriedade das empresas privadas e públicas, os órgãos públicos da administração direta e indireta e dos poderes Legislativo e Judiciário, que possuam empregados regidos pela Consolidação das Leis do Trabalho (CLT), em manter Serviços Especializados em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho, com a finalidade de promover a saúde e proteger a integridade do trabalhador no local de trabalho.

NR 5 – Comissão Interna de Prevenção de Acidentes – Dispõe sobre a obrigatoriedade quanto à instalação da Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), e sua manutenção em regular funcionamento nas empresas privadas, públicas, sociedades de economia mista, órgãos da administração direta e indireta, instituições beneficentes, associações recreativas, cooperativas, bem como outras instituições que admitam trabalhadores como empregados, com o objetivo de prevenção de acidentes e doenças decorrentes do trabalho, de modo a tornar compatível permanentemente o trabalho com a preservação da vida e a promoção da saúde do trabalhador.

NR 6 – Equipamento de Proteção Individual (EPI) (1006.000-7) – Estabelece a obrigatoriedade do uso dos equipamentos de proteção de uso individual, de fabricação nacional ou estrangeira, destinado a proteger a saúde e a integridade física do trabalhador.

NR 7 – Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (107.000-2) – Estabelece a obrigatoriedade de elaboração e implementação, por parte de todos os empregadores e instituições que admitam trabalhadores como empregados, do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO), com o objetivo de promoção e preservação da saúde do conjunto dos seus trabalhadores.

NR 8 – Edificações (108.000-8) – Estabelece requisitos técnicos mínimos que devem ser observados nas edificações, para garantir segurança e conforto aos que nelas trabalhem.

NR 9 – Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (109.000-3) – Estabelece a obrigatoriedade da elaboração e implementação, por parte de todos os empregadores e instituições que admitam trabalhadores como empregados, do Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA), visando à preservação da saúde e da integridade dos trabalhadores, por meio da antecipação, do reconhecimento, da avaliação e do consequente controle da ocorrência de riscos ambientais existentes ou que venham a existir no ambiente de trabalho, tendo em consideração a proteção do meio ambiente e dos recursos naturais.

NR 10 – Instalações e Serviços em Eletricidade (110.000-9) – Determina as condições mínimas exigíveis para garantir a segurança dos empregados que trabalham em instalações elétricas, em suas diversas etapas, incluindo projeto, execução, operação, manutenção, reforma e ampliação e, ainda, a segurança de usuários e terceiros.

NR 12 – Máquinas e Equipamentos (112.000-0) – Fixa normas quanto a instalações e áreas de trabalho, pisos onde se instalam máquinas, áreas de circulação, entre outras, visando à segurança do trabalhador no local de trabalho.

NR 15 – Atividades e Operações Insalubres (115.000-6) – Normaliza as atividades ou operações insalubres que possam desenvolver-se acima do "limite de tolerância", no que se refere a concentração ou intensidade máxima ou mínima, relacionada com a natureza e o tempo de exposição ao agente, que não causará dano à saúde do trabalhador, durante a sua vida laboral assegurando ao trabalhador a percepção de adicional, incidente sobre o salário mínimo da região.

NR 17 – Ergonomia (117.000-7) – Estabelece parâmetros que permitam a adaptação das condições de trabalho às características psicofisiológicas dos trabalhadores, de modo a proporcionar um máximo de conforto, segurança e desempenho eficiente. As condições de trabalho incluem aspectos relacionados ao levantamento, ao transporte e à descarga de materiais, ao mobiliário, aos equipamentos e às condições ambientais do posto de trabalho, e à própria organização do trabalho.

NR 20 – Líquidos Combustíveis e Inflamáveis (120.000-3) – Estabelece procedimentos seguros quanto ao manuseio e ao armazenamento de líquidos combustíveis e inflamáveis, visando à segurança e à saúde do trabalhador.

NR 23 – Proteção contra Incêndios (123.000-0) – Dispõe sobre a obrigatoriedade das empresas e instituições em manter suas instalações providas de proteções contra incêndio, saídas para a rápida retirada do pessoal em serviço, em caso de incêndio, equipamento suficiente para combater o fogo em seu início e treinamento de pessoas no uso correto desses equipamentos, de modo que os que se encontrem nesses locais possam abandoná-los com rapidez e segurança, em caso de emergência.

NR 24 – Condições Sanitárias e de Conforto nos Locais de Trabalho (124.000-5) – Fixa normas referentes as áreas destinadas aos sanitários quanto a atendimento às dimensões essenciais, higienização, durante toda a jornada de trabalho e outras deliberações pertinentes para atender ao mínimo de conforto exigível no local de trabalho.

NR 26 – Sinalização de Segurança (126-000-6) – Fixa as cores que devem ser usadas nos locais de trabalho para prevenção de acidentes, indicando os equipamentos de segurança, delimitando áreas, identificando as canalizações empregadas nas indústrias para a condução de líquidos e gases e advertindo contra riscos.

LEGISLAÇÃO PARA O TRABALHO COM OGM

No *caput* do art. 225 da Constituição Federal Brasileira, ao Poder Público e à sociedade é garantido o direito ao meio ambiente equilibrado e à sadia qualidade de vida que todos têm. Ao Poder Público é incumbido, ainda, o dever de assegurar a efetividade da qualidade do meio ambiente, valendo-se do poder de fiscalizar todas as atividades que envolvam a natureza e a biogenética e de aplicar sanções penais e administrativas àqueles que derem causa a prejuízos, conforme os incisos do parágrafo primeiro do artigo em questão e as disposições da legislação de biossegurança[28].

Disciplinando a materia imposta pela Constituição Federal Brasileira, em 5.1.1995 foi editada a Lei n. 8.974, entretanto, no decurso do tempo, decretos e medidas provisórias foram editados para seu ajuste, uma vez que havia conflitos de legislação relacionada ao meio ambiente, e às competências entre órgãos. Com o propósito de equacionar tais dificuldades foi formulado o Projeto de Lei n. 2.401 de 2003 que, em 24 de março de 2005, foi transformado em lei, passando a vigorar a nova Lei de Biossegurança, n. 11.105/2005[1]

Regulamentada pelo Decreto n. 5.591, de 22.11.2005, a Lei n. 11.105/2005 estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam OGM e seus derivados, cria o CNBS e reestrutura a CTNBio, dispondo sobre a Política Nacional de Biossegurança (PNB). Tais diplomas revogaram a Lei n. 8.974, de 5.1.1995, e a Medida Provisória n. 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º,

9º, 10 e 16 da Lei n. 10.814, de 15 de dezembro de 2003[29].

A nova Lei veio reordenar as normas de biossegurança que envolvam os OGM e seus derivados no Brasil, estabelecendo mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente.

No sentido de consolidar a legislação já existente, relativa à inserção e manipulação de OGM, também estabelece diretrizes e fixa competências, de cada órgão. A criação do CNBS, órgão vinculado à Presidência da República, objetiva a formulação e implementação da PNB, e tem como membros quinze ministros de Estado envolvidos na questão dos OGM.

Seu art. 2º estabelece que somente pessoas jurídicas de direito público ou privado podem desenvolver atividades e projetos com uso de OGM e seus derivados, sejam elas relacionadas à pesquisa científica, ensino, desenvolvimento tecnológico ou mesmo à produção industrial.

As atividades são normalizadas por Instruções Normativas remanescentes da Lei revogada e novas Resoluções Normativas. No âmbito das instituições de ensino e pesquisa, compreendem as seguintes:

a. Resoluções Normativas CNS ns. 196, 251 e 292;
b. Resoluções Normativas CNBS ns. 1, 2, 3 e 4;
c. Instruções Normativas CTNBio ns. 2, 4, 8, 9, 13, 17, 18 e 19;
d. Resoluções Normativas CTNBio ns. 1, 2, 6, 7 e 8.

Para o desenvolvimento de atividades com OGM, as organizações públicas, privadas, nacionais, estrangeiras ou internacionais, bem como órgãos financiadores ou patrocinadores de atividades ou projetos devem submeter-se à Lei n. 11.105/2005 (inciso XI do art. 2º), certificando-se da idoneidade técnico-científica com a apresentação do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) emitido pela CTNBio (art. 6º, XIX), sob pena de se tornarem corresponsáveis pelos eventuais efeitos advindos de seu cumprimento.

As instituições que se dedicam ao ensino, à pesquisa científica, ao desenvolvimento tecnológico e à prestação de serviços que envolvam OGM e derivados também são incluídas, estando sujeitas ao atendimento das normas. Em resumo, essas Instituições se submeterão às Instruções e Resoluções Normativas da CTNBio, relativas ao trabalho em contenção com OGM e às demais, no que couber.

GESTÃO DAS COMISSÕES INTERNAS DE BIOSSEGURANÇA

A CIBio tem a importante função de cuidar das questões de biossegurança no âmbito da instituição e suas competências são definidas no art. 18 da Lei n. 11.105/2005. Assim, tem amparo legal para exercer suas atividades com autoridade estabelecida em lei, composta por membros especialistas com conhecimento e experiência necessários para o monitoramento e vigilância dos trabalhos de engenharia genética, manipulação, produção e transporte de OGM. Elas são regulamentadas pela Lei n. 11.105/2005, pelo Decreto n. 5.591/2005 e pela Resolução Normativa (RN) 01/06, expedida pela CTNBio.

Cabe ao responsável legal da instituição nomear os membros da CIBIo, cuja composição deve ter, no mínimo, três especialistas em áreas compatíveis com a atuação da entidade, e dentre estes será indicado o presidente. As mudanças na composição da comissão serão submetidas à aprovação da CTNBio, mediante apresentgação do currículo do especialista. As CIBio poderão também incluir um membro externo à comunidade científica, que poderá ser funcionário ou não da entidade, desde que esteja preparado para representar os interesses da comunidade.

As CIBio, para o cumprimento de suas atribuições e de acordo com a complexidade de cada instituição, seja pública ou privada, pode estabelecer mecanismos para gerir suas atividades. A criação de Regulamento Interno é uma ferramenta que pode facilitar seu funcionamento, manter a padronização das atividades quando da mudança de gestão, modificação na composição de seus membros, definição de agenda de reuniões e inspeções das instalações de pesquisa, indicação de secretaria para o suporte administrativas entre outras.

Em Instituições de Ensino e Pesquisa, a CIBIo possui estreita ligação com Comitês de Ética em Pesquisa seja em Humanos ou Animais, bem como com as Agências de Fomento, uma vez que a aprovação dos projetos é vinculada entre estas entidades, o que permite melhor controle sobre as pesquisas desenvolvidas.

A gestão da CIBIo deve compreender mecanismos que assegure o cumprimento de suas competências e atribuições, as quais, em síntese, destacamos:

a. Garantir que os responsáveis técnicos pelos projetos tenham ciência do cumprimento das normas de biossegurança em conformidade com as recomendações da CTNBio e da CIBio;
b. Solicitar o Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) mediante apresentação dos documen-

tos definidos na Lei, bem como a extensão do CQB quando da inserção de novas unidades operativas;

c. Reunir-se pelo menos uma vez a cada semestre e extraordinariamente quando necessário, mantendo registro em ata;
d. Promover treinamento em biossegurança a fim de garantir que pesquisadores e trabalhadores estejam cientes dos riscos a que estão expostos e adotem as medidas de prevenção relativas à saúde e segurança no trabalho;
e. Atuar como interlocutora entre a instituição representada e a CTNBio respondendo pelas normas e recomendações, bem como, nas inspeções, garantindo que os laboratórios atendam às exigências determinadas pela legislação;
f. Realizar inspeções nas unidades operativas pelo menos uma vez ao ano;
g. Deliberar sobre a aprovação de projetos que envolvam OGM de classe de risco 1;
h. Submeter à CTNBio os projetos de pesquisa que envolvam classe de risco superior ao nível 1, assegurando que as mesmas somente serão iniciadas após a devida aprovação da CTNBio;
i. Solicitar autorização da CIBio para a importação de OGM e AnGM;
j. Manter registro da documentação relativa aos projetos desenvolvidos na Instituição;
k. Estabelecer programas de prevenção de acidentes;
l. Submeter anualmente à CTNBio o relatório das atividades desenvolvidas sob pena de perder o CQB.

É importante ressaltar que, nas instituições de ensino e pesquisa públicas, é imperativo que as atividades sejam sedimentadas dentro de princípios da transparência e publicidade, em perfeita interação entre pesquisador, instâncias superiores e comunidade. O uso da internet para este fim, através da inserção da CIBio no *site* da instituição, pode servir como importante instrumento de comunicação.

A CIBio, seja da instituição pública ou privada, tem autonomia para exercer suas atividades dentro do âmbito de sua competência, e sua atuação poderá ser de excelência desde que tenha instrumentos de gestão apropriados e o apoio da alta direção.

Para o cumprimento de suas obrigações e implementação de suas recomendações, a CIBio poderá necessitar de mecanismos que facilitem, em sua rotina, o monitoramento e a vigilância dos trabalhos. A padronização de procedimentos para acompanhamento e controle das pesquisas desenvolvidas na instituição é de suma importância como instrumento de gestão, assim como o estabelecimento de Normas Internas para apresentação de projetos tramitando por Relator especificamente designado para avaliar se as normas de biossegurança estão sendo contempladas e apresentando recomendações à CIBIo. Essas rotinas estão suportadas na criação de requerimentos, formulários e roteiros, cujos modelos se encontram ilustrados nas Figuras 1 a 6, visando auxiliar as atividades de registro e controle das documentações e assegurar o cumprimento da regulamentação em Biossegurança com OGM.

Documentos Legais Correspondentes às Práticas com OGMs (www.ctnbio.gov.br/ctnbio/legis)

Lei n. 11.105, de 24.3.2005 – Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam OGM e seus derivados, cria o CNBS, reestrutura a CTNBio, dispõe sobre a PNB, revoga a Lei n. 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória n. 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei n. 10.814, de 15.12.2003, e dá outras providências.

Lei n. 11.460, de 21.3.2007 – Dispõe sobre o plantio de organismos geneticamente modificados em unidades de conservação; acrescenta dispositivos à Lei n. 9.985, de 18 de julho de 2000, e à Lei n. 11.105, de 24.3.2005; revoga dispositivo da Lei n. 10.814, de 15.12.2003; e dá outras providências.

Lei n. 6.938, de 31.8.1981 – Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências.

Lei n. 9.782, de 26.1.1999 – Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências.

Decreto n. 4.074, de 4.1.2002 – Regulamenta a Lei n. 7.802, de 11.7.1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

Decreto n. 4.339, de 22.8.2002 – Institui princípios e diretrizes para a implementação da Política Nacional da Biodiversidade.

Decreto n. 5.591, de 22.11.2005 – Regulamenta dispositivos da Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005,

COMISSÃO INTERNA DE BIOSSEGURANÇA (CIBio)

ROTEIRO DE INSPEÇÃO DE LABORATÓRIO

Data: ___/___/___

Laboratório: _____

Localização: _____

Docente responsável: _____

Pesquisadores, alunos e técnicos: _____

Finalidade a que se propõe o projeto que utiliza OGM:

Pesquisa em regime de contenção	[ ]	Comercialização	[ ]
Avaliação de campo	[ ]	Transporte	[ ]
Avaliação de produto	[ ]	Descarte	[ ]
Ensino	[ ]	Armazenamento	[ ]
Produção comercial	[ ]		

Atividades desenvolvidas com:

Animais	[ ]
Plantas	[ ]
Bactérias	[ ]
Fungos	[ ]
Vírus	[ ]

De acordo com a descrição da Lei n. 8.974, de 5.1.96, estes organismos são pertencentes ao:

Grupo I	[ ]
Grupo II	[ ]
Grupo III	[ ]

Nível de biossegurança do laboratório:

NB 1 [ ] NB 2 [ ] NB 3 [ ]

Organismos objetos da atividade:

_____

_____

_____

Figura 1. Modelo de formulário de roteiro de inspeção de laboratório.

2. SEGURANÇA COM MATERIAIS

2.1 – Estocagem

NB1 – Com cuidados especiais (rótulos e outros)	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Sem especificação	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Lacrados	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Livre acesso	Sim [ ]	Não [ ]

2.2 – Transporte de material

NB1 – O laboratório realiza transferência de materiais?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – O transporte é feito em recipientes fechados e inquebráveis?	Sim [ ]	Não [ ]

2.3 – Descarte de substâncias químicas

NB1 – Adequado (com depósito) [ ]
Inadequado (no esgoto) [ ]

2.4 – Descarte de substâncias químicas

NB1 – Autoclavado antes e embalado	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Autoclavado – lixo hospitalar	Sim [ ]	Não [ ]

2.5 – Eliminação de objetos

NB1 – Em frascos rotulados	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Sem especificação adequada	Sim [ ]	Não [ ]

3. SEGURANÇA E HIGIENE PESSOAL E COLETIVA

3.1 – Descontaminação/inativação

NB1 – Os materiais e equipamentos são esterilizados antes de ser descartados, inclusive água que entrou em contato com microrganismos ou com materiais expostos a eles, assim como equipamentos e suprimentos?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Superfícies de trabalho são descontaminados pelo menos uma vez ao dia?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Agulhas e seringas são colocadas em recipientes à prova de perfurações e descontaminadas?	Sim [ ]	Não [ ]

3.2 – Equipamentos de proteção

O pessoal do laboratório usa roupas de proteção:

NB1 Uniforme e jalecos	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 Luvas	Sim [ ]	Não [ ]
NB2 Máscaras	Sim [ ]	Não [ ]
NB2 Gorros	Sim [ ]	Não [ ]

NB2 – Pessoal técnico tem treinamento técnico específico no manejo de agentes patogênicos?	Sim [ ]	Não [ ]
NB2 – Antes de sair do ambiente, o pessoal retira os uniformes?	Sim [ ]	Não [ ]

Figura 1. Modelo de formulário de roteiro de inspeção de laboratório *(continuação)*.

3.3 – Acidentes/informação

NB1 – É mantido registro de acidentes?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Houve algum acidente nos últimos seis meses?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – Quais providências foram tomadas?	Sim [ ]	Não [ ]
NB1 – O laboratório possui instalações para atendimento de primeiros-socorros?	Sim [ ]	Não [ ]

São Paulo, ____/____/____

Responsável pelo laboratório: _____

Parecer da comissão:

_____

_____

_____

Figura 1. Modelo de formulário de roteiro de inspeção de laboratório *(continuação)*.

AUTORIZAÇÃO DE TRABALHO
ETIQUETA DE IDENTIFICAÇÃO DE SEGURANÇA

Responsável pelo laboratório: _____

Telefone: _____ Data: ___/___/___

Prédio _____

Sala: _____

Serviço requerido: _____

Executor: _____

Identificação e lista (deixar à disposição a lista de reagentes anexa)

Biológico (Anexo 1)

Químico (Anexo 2)

Radioisótopo (Anexo 3)

Descontaminação realizada por: _____

Supervisão de: _____

Descontaminação para segurança em: _____

Data da última descontaminação: ___/___/___

Em caso de emergência, ligar para o número: _____

Falar com o Prof.: _____

Comissão Interna de Biossegurança (CIBio)

Figura 2. Modelo de identificação de segurança em laboratório.

A SER PREENCHIDO PELA CIBio

Analisado em: _____ / _____ / _____ Número do projeto: _____

Por: _____ Data de entrada: _____ /_____ / ____

Assinatura: _____ Situação: [ ] Aprovado [ ] Reprovado

Solicitação de autorização para desenvolvimento de projeto de pesquisa em contenção com organismos geneticamente modificados (OGM)

Projeto de Pesquisa

Título:	
Data de início do projeto (mês/ano):	Data prevista de conclusão (mês/ano):

Pesquisador Principal

Nome:		
Endereço:		
E-mail:	Telefone:	Fax:

Organismos

Receptor:	Parental:
Material genético incluído no OGM:	
Vetor:	

Classificação do OGM

[ ] Tipo I	[ ] Tipo II

Classificação do Nível de Biossegurança do Laboratório

[ ] NB-1	[ ] NB-2	[ ] NB-3

Objetivo do Projeto

O trabalho em contenção objetiva a liberação posterior para o meio ambiente?

[ ] Sim	[ ] Não

Laboratório onde as pesquisas com o OGM serão desenvolvidas

Equipe (nome e função)

Equipamentos utilizados durante o trabalho com contenção do OGMs

Procedimentos de limpeza, desinfecção, descontaminação e descarte de material/resíduos

Anexar: cópia do projeto, currículo resumido do pesquisador principal e equipe envolvida no projeto e literatura científica que possa dar subsídios para o parecer da CTNBio.

Figura 3. Modelo de formulário para solicitação de autorização para desenvolvimento de pesquisa em contenção com OGM.

A SER PREENCHIDO PELA CIBio

Analisado em: _____ / _____ / _____ Número do projeto: _____

Por: _____ Data de entrada: _____ /_____ /____

Assinatura: _____ Situação: [ ] Aprovado [ ] Reprovado

Pedido de autorização para desenvolvimento de projeto de pesquisa em contenção com animais não geneticamente modificados em que os organismos geneticamente modificados não OGM são manipulados.

Título:	
Data de início do projeto (mês/ano):	Data prevista de conclusão (mês/ano):

Pesquisador Principal

Nome:		
Endereço:		
E-mail:	Telefone:	Fax:

Classificação do AnGM (quanto ao grupo de risco)

[ ] Tipo I	[ ] Tipo II

Classificação do AnGM (quanto ao nível de biossegurança)

[ ] NB-1	[ ] NB-2	[ ] NB-3	[ ] NB-4

Objetivo do Projeto

Nome do laboratório onde será desenvolvida a pesquisa com AnGM:
Nome do docente responsável pelo laboratório:
Data do credenciamento do laboratório: ____ /____ /____

Equipe (nome e função)

Espécie do animal a ser geneticamente alterado:
Procedimento de alteração genética a ser utilizado:
Informar se pretende estabelecer uma colônia com AnGM:
Características do material genético a ser inserido:
Atividades biológicas que serão adquiridas/perdidas pelo AnGM:
Informar sobre a possibilidade de alteração nas características de patogenicidade do AnGM:
Informar sobre a possibilidade de o AnGM ganhar alguma vantagem seletiva sobre os correspondentes não modificados geneticamente, quando de um possível escape para o meio ambiente:
Informar sobre a possibilidade de risco de transmissão de doenças para outros animais, incluindo seres humanos, ou vegetais:
Informar se o AnGM passará a expressar alguma proteína com potencial sabidamente tóxico. Se positivo, informe se existe ou não forma de tratamento:
Aspectos relevantes que não foram abordados nos itens anteriores para o esclarecimento sobre o nível de biossegurança do AnGM:
Data e assinatura: _____ Pesquisador principal _____ Docente responsável pelo laboratório _____ Presidente da CIBio

Anexar: cópia do projeto, currículo resumido do pesquisador principal e equipe envolvida no projeto e literatura científica que possa dar subsídios para o parecer da CTNBio.

Figura 4. Modelo de formulário para solicitação de autorização para desenvolvimento de pesquisa em contenção com animais não geneticamente modificados onde OGM serão manipulados.

TERMO DE RESPONSABILIDADE

Projeto: _____

Eu, _____, *pesquisador(a) responsável pelo projeto, asseguro à CIBio que:*

- Li as Instruções Normativas da CTNBio, pertinentes para trabalhar com os OGM acima referidos, que se encontram no site http://www.ctnbio.gov.br e que concordo com as suas exigências durante a vigência deste projeto.
- A equipe que participa deste projeto também está ciente das referidas Instruções Normativas e é competente para executá-las.
- Comprometo-me a solicitar nova aprovação à CIBio local sempre que ocorra alteração significativa nos objetivos/procedimentos/instalações aqui descritos e a fornecer-lhe um relatório anual de andamento do projeto.
- Tudo que foi declarado é a absoluta expressão da verdade. Estou ciente de que o eventual não cumprimento das Instruções Normativas da CTNBio é de minha total responsabilidade e que estarei sujeito às punições previstas na legislação em vigor.

Data: _____ /_____ /_____

Assinatura do pesquisador principal: _____

Assinatura: _____

Deliberação CIBio: [ ] Aprovado [ ] Reprovado

Data: _____ /_____ /_____

Assinatura do presidente da CIBio: _____

Figura 5. Modelo de termo de responsabilidade.

A SER PREENCHIDO PELA CIBio

Analisado em: _____ /_____ /_____ Número do projeto: _____

Por Prof. Dr.: _____ Data de entrada: _____ /_____ / _____

Assinatura: _____ Situação: [ ] Aprovado [ ] Reprovado

1 – Projeto de pesquisa

Título:

2 – Pesquisador principal

Nome:		
Departamento:		
E-mail:	Telefone:	Fax:

3 – Objetivos

4 – Sumário do projeto

4.1 Descrição e caracterização do OGM está de acordo com as Normas para Trabalhos em Contenção com OGM (Lei n. 11.105, de 24.3.2005 e Resolução Normativa CTNBio n. 2)

[ ] Sim	[ ] Não

4.2 Justifica o volume e a concentração máxima de OGM a ser trabalhada:

[ ] Sim	[ ] Não

4.3 Adequação da metodologia com o nível de Biossegurança do Laboratório:

[ ] Sim	[ ] Não

4.4 O trabalho em contenção objetiva a liberação posterior para o meio ambiente?

[ ] Sim	[ ] Não

4.5 Descrever resumidamente se a descrição e caracerização do OGM está de acordo com a Resolução Normativa n. 2/2006.

4.5 Descrição resumida da manipulação, contenção e descarte – cuidados e utilização de EPI e EPC

5 – Critérios para aprovação

5.1 Análise da capacitação da equipe proponente

5.2 Análise da capacitação de contenção dos OGM

5.3 Análise de riscos e benefícios

São Paulo, _____ /_____ /_____ _____ _____

Relator Assinatura:

Figura 6. Modelo de roteiro para emissão de parecer.

que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição, e dá outras providências.

Decreto n. 6.925, de 6.8.2009 – Dispõe sobre a aplicação do art. 19 do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança da Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgado pelo Decreto n. 5.705, de 16.2.2006, e dá outras providências.

Resolução CNS n. 196 – Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Resolução CNS n. 251 – Aprova normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos

Resolução CNS n. 292 – Norma complementar à Resolução CNS n. 196/96, referente à área específica sobre pesquisas em seres humanos, coordenadas do exterior ou com participação estrangeira e pesquisas que envolvam remessa de material biológico para o exterior.

Resolução CNBS n. 1 – Aprova o Regimento Interno do CNBS.

Resolução CNBS n. 2 – Ratifica o Parecer Técnico n. 987/2007 da CTNBio, favorável à liberação comercial de milho geneticamente modificado, evento T25 ou Liberty Link.

Resolução CNBS n. 3 – Ratifica o Parecer Técnico n. 1.100/2007 da CTNBio, favorável à liberação comercial de milho geneticamente modificado, evento MON810 ou Milho Guardian.

Resolução CNBS n. 4 – Aprova o Parecer Técnico no 1.255/2008 da CTNBio, favorável à liberação comercial de milho geneticamente modificado, Bt 11.

Instrução Normativa CTNBio n. 1, de 6.9.1996 – Dispõe sobre o requerimento e a emissão do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) e a instalação e o funcionamento da CIBio.

Instrução Normativa CTNBio n. 2, de 12.9.1996 – Regulamentada as normas provisórias para importação de vegetais geneticamente modificados destinados à pesquisa.

Instrução Normativa CTNBio n. 4, de 20.12.1996 – Aprova as normas para o transporte de OGM.

Instrução Normativa CTNBio n. 8, de 11.7.1997 – Dispõe sobre a manipulação genética e sobre a clonagem em seres humanos.

Instrução Normativa CTNBio n. 9, de 16.10.1997 – Fixa as normas sobre intervenção genética em seres humanos.

Instrução Normativa CTNBio n. 13, de 2.6.1998 – Regulamenta as normas para importação de animais geneticamente modificados (AGM) para uso em trabalho em regime de contenção.

Instrução Normativa CTNBio n. 17, de 17.11.1998 – Fixa as normas que regulamentam as atividades de importação, comercialização, transporte, armazenamento, manipulação, consumo, liberação e descarte de produtos derivados de OGM.

Instrução Normativa CTNBio n. 18 – Dispõe sobre a liberação planejada no meio ambiente e comercial da soja *Roundup Ready*.

Instrução Normativa CTNBio n. 19 – Audiências públicas de caráter técnico-científico.

Resolução Normativa CTNBio n. 1 – Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das CIBio e sobre os critérios e procedimentos para requerimento, emissão, revisão, extensão, suspensão e cancelamento do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB).

Resolução Normativa CTNBio n. 2 – Dispõe sobre a classificação de riscos de OGM e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM e seus derivados em contenção. A Resolução Normativa n. 6 dispõe sobre as normas para liberação planejada no meio ambiente de OGM de origem vegetal e seus derivados.

Resolução Normativa CTNBio n. 7 – Dispõe sobre as normas para liberação planejada no meio ambiente de microrganismos e animais geneticamente modificados (MGM e AnGM) de Classe de Risco I e seus derivados.

Resolução Normativa CTNBio n. 8 – Dispõe sobre normas simplificadas para Liberação Planejada no meio ambiente de OGM da Classe de Risco I e seus derivados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005.
2. Costa MAF, Costa MFB. Biossegurança: elo estratégico de segurança e saúde no trabalho. Revista CIPA. 2002;23(266):86-90.
3. Costa MAF. Protegendo a vida. Revista Proteção. 1999;46-7.
4. Costa MAF. Biossegurança e qualidade: uma necessidade de integração. Revista Biotecnologia. 1998;I(4):32.
5. Szklarowsky LF. Os transgênicos e a vida humana. Jus Navigandi. 2003;8(165). Disponível em: http://www.jus.com.br.
6. Canhos D. Educação e conscientização pública e intercâmbio de informações. MMA/SBF, 1998. Disponível em: http://www.mma.gov.br/biodiversidade. Acesso em: 8/3/2001.
7. Buereu Veritas Brasil. Legislação Ambiental aplicada ao Sistema de Gestão Ambiental ISO-14001. Apostila elaborada pelo Departamento de Qualidade e Segurança do Meio Ambiente (DQM). São Paulo: Revisão 4; 2000.
8. Bicudo C. Identificação, monitoramento e minimização de impactos negativos. MMA/SBF, 1998. Disponível em: http://www.mma.gov.br/biodiversidade [Capturado]. Acesso em: 8/3/2001.
9. Wilson EO. Biodiversidade. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1997.
10. Wolff SA. Adequação da legislação ambiental brasileira à Convenção sobre Diversidade Biológica. MMA/SBF; 2000. Acesso em: 8/3/2001.
11. http://www.senado.gov.br/legbras
12. http://www.meusite.com.br/cobea/etica.htm
13. http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/legis/geral
14. http://www2.camara.gov.br/legin/fed
15. http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/leis
16. http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias
17. http://www.anvisa.gov.br/legis
18. http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/legislacao
19. http://conselho.saude.gov.br/resolucoes
20. http://www.prodam.sp.gov.br/limpurb
21. http://www.mma.gov.br
22. http://www.ambiente.sp.gov.br
23. http://www.saúde.sp.gov.br
24. http://www.prefeitura.sp.gov.br
25. http://www.abnt.gov.br
26. Cardella B. Segurança no trabalho e prevenção de acidentes – uma abordagem holística. São Paulo: Atlas, 1999.
27. http://www.mtb.gov.br/sits
28. Brasil. Constituição da República Federativa do Brasil de 1988.
29. Brasil. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF. 1995;133(5). Seção 1.
30. http://www.ctnbio.gov.br/ctnbio/legis

capítulo 11

Riscos ocupacionais devido aos agentes químicos

Vladi Olga Consiglieri

INTRODUÇÃO

Em nossas vidas, mesmo fora do ambiente de trabalho, estamos expostos a inúmeros agentes químicos, como poeira, poluição, aditivos alimentares e contaminantes, como agrotóxicos, inseticidas, entre outros. A área de conhecimento que estuda os efeitos deletérios decorrentes da interação entre organismos vivos e substâncias químicas é a toxicologia, que pode ser dividida, segundo a área de atuação, em ambiental, ocupacional, de alimentos, medicamentos e social. O ramo da toxicologia particularmente voltado ao estudo da interação entre substâncias químicas estranhas ao organismo (xenobióticas ou xenoquímicas) manuseadas no ambiente de trabalho e pelo trabalhador é a toxicologia ocupacional.

Intoxicação é o processo de alteração deletéria do organismo causado por substâncias endógenas ou xenobióticas, caracterizado por alterações bioquímicas que se traduzem em desequilíbrio fisiológico. A intoxicação pode ser evidenciada por exames laboratoriais ou exame clínico. Simplificando, a intoxicação não existe apenas quando há substância química, mas também quando há um processo patológico (doença) ocasionado pela substância. Deve-se ressaltar que a presença de agentes químicos no ambiente de trabalho não significa necessariamente o desenvolvimento de intoxicação entre os trabalhadores, mas indica a existência de risco que deverá ser avaliado[1,2].

A estimativa do risco ocupacional decorrente do manuseio das substâncias químicas é o processo de avaliação das propriedades tóxicas dos agentes químicos e das condições de exposição do trabalhador para verificar a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos e caracterizar sua natureza. Esse processo inclui: a) a identificação da periculosidade da substância química, isto é, se esta é capaz de interagir com o organismo e causar efeito danoso; b) a avaliação da relação dose-resposta que estabelece a correlação entre a extensão da exposição e a probabilidade de ocorrência dos efeitos tóxicos; c) a avaliação do tipo de exposição, considerando as vias de exposição, o tempo e a dose aos quais o trabalhador está exposto; d) a caracterização do risco[3] (Figura 1).

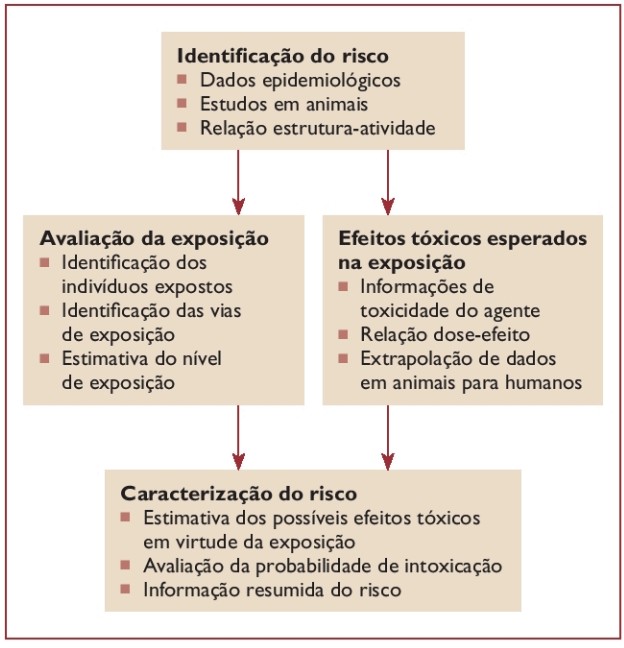


Figura 1. Elementos para avaliação do risco químico. Fonte: adaptado de Derelanko, 1995[3]; Zakrzewski, 1997[4].

IDENTIFICAÇÃO DA PERICULOSIDADE DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Para avaliar o risco, em razão da presença de substâncias químicas no ambiente de trabalho, é necessário verificar em que forma este agente se apresenta e sua possibilidade de ser absorvido pelo organismo. Por exemplo, o chumbo inorgânico pode ser facilmente absorvido se houver exposição à poeira de cloreto de chumbo (muito solúvel). Se esta substância estiver na forma de solução, não há perigo no seu manuseio, desde que não seja ingerido ou injetado. Poeira de sulfeto de chumbo também não oferece risco, pois é insolúvel e não absorvível[1].

Após a verificação de que a substância oferece risco na forma em que se encontra, terão de ser observados a dose ou concentração e o tempo em que o trabalhador se mantém em contato com o produto. Inicialmente, todos os esforços devem ser reunidos para evitar que o agente químico permaneça no ambiente (uso de capelas e exaustores, por exemplo). Entretanto, se tais medidas não forem suficientes, têm de ser empregados os equipamentos de proteção individual (EPI). Eventualmente, em acidentes de ruptura de tubulacão, quebra de frascos, entre outros, devem ser implementadas medidas preventivas, como manutenção periódica das instalações e medidas de proteção que impeçam a exposição, evitando ou diminuindo, assim, casos de intoxicação aguda[2].

Relação dose-efeito

Em toxicologia, o efeito é proporcional à dose recebida, assim como o tempo de contato ou de exposição. Portanto, o efeito tóxico provocado resulta da quantidade de substância ou agente químico em contato e do tempo de exposição do trabalhador. Em alguns casos, o tempo de exposição e as quantidades de agente químico são proporcionais à probabilidade de adquirir uma doença. No caso do cigarro, por exemplo, quanto maior o tempo e o número de cigarros consumidos por dia, maior a probabilidade de desenvolver o câncer de pulmão, ou, ainda, a elevação do risco em contrair câncer conforme aumentam o tempo de exposição ao benzeno e sua concentração no ambiente[1,4,19].

Interação com o organismo

É importante conhecer como as substâncias químicas interagem com o organismo e onde ocorre essa interação, pois disso depende a escolha das medidas preventivas. A interação pode ser superficial, como no caso de substâncias irritantes, ou sistêmica profunda, em que o agente químico penetra no organismo, cai na corrente sanguínea e causa efeito sistêmico. Há ainda substâncias, como os gases inertes, que, embora não interajam com o organismo, podem causar a morte por asfixia, dependendo de sua concentração no ambiente e do tempo de exposição[5]. As possibilidades de interação entre as substâncias químicas e o organismo estão resumidas no Quadro 1.

As principais vias de absorção das substâncias químicas no organismo são a pulmonar, a cutânea, a oral e a oftálmica, (Figura 2) cujas características estão apresentadas no Quadro 2.

A possibilidade de um composto ser absorvido depende de vários fatores, sendo os mais significativos as características físico-químicas do agente químico, como solubilidade, volatilidade, peso molecular e via de contato com o organismo[2,3].

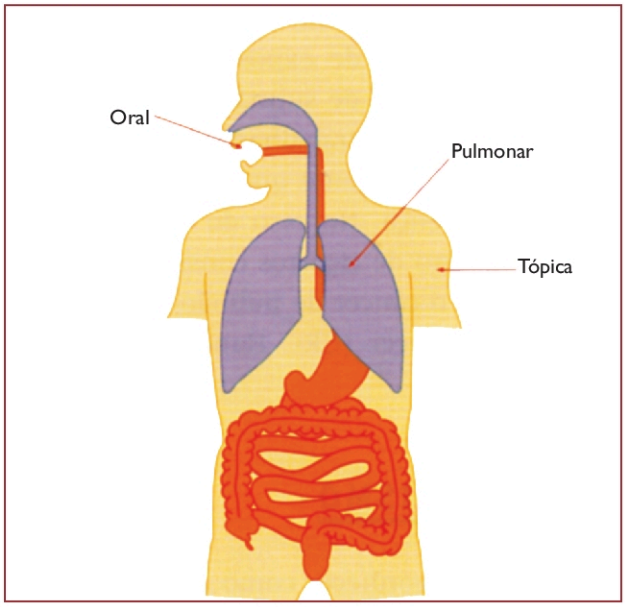


Figura 2. Vias de entrada de agentes químicos no organismo.

Quadro 1. Interações possíveis entre os agentes químicos e o organismo e efeitos tóxicos resultantes[1,2].

Tipo de interação	Via de interação	Efeitos tóxicos resultantes
Superficial (sem absorção)	Pele e mucosas	Locais como queimaduras, irritação, alergia
Sistêmica (contato seguido de absorção para a circulação sanguínea)	Pele, mucosas, pulmões (inalação) ou trato gastrintestinal (ingestão)	Distribuição da substância química para os tecidos, causando efeitos sistêmicos específicos
Sem interação propriamente dita	Pulmões (inalação)	Deslocamento do oxigênio disponível resultando em asfixia

Quadro 2. Vias de absorção de substâncias químicas e principais fatores que influenciam na absorção

Via de absorção	Características da via de absorção	Fatores que favorecem a entrada das substâncias químicas
Pulmonar	É a principal e mais perigosa via, pois o agente químico penetra rapidamente na circulação sem sofrer metabolismo hepático. Há absorção quase completa e os efeitos tóxicos são imediatos.	Concentração do agente químico no ambiente, volatilidade, esforço físico do trabalhador, tempo de exposição, características de lipo e hidrossolubilidade da substância.
Tópica (pele e mucosas)	A substância química penetra através das células da epiderme ou pelos anexos (glândulas sebáceas, folículos pilosos), atravessando o estrato córneo, principal barreira da pele. Após a permeação, pode atingir os capilares e entrar na circulação. É menos importante que a pulmonar, entretanto, não deve ser negligenciada, pois há substâncias que são grandemente absorvidas por essa via.	Lipo e hidrossolubilidade, peso molecular, área e tempo de contato com as substâncias, umidade da pele (suor), local da exposição (o estrato córneo é mais espesso nas palmas das mãos), integridade da pele. Nas mucosas, a facilidade de permeação é maior.
Oral	Decorrente de ingestões acidentais no ambiente de trabalho. A absorção ocorre após submissão dos agentes químicos aos fluidos gastrintestinais, que ganham a circulação depois da passagem pelo fígado pelo sistema porta, onde são parcialmente biotransformados.	A absorção depende das propriedades físico-químicas como solubilidade, grau de ionização, peso molecular, conteúdo gástrico, solvente ou meio que veicula o agente químico, dose ingerida e concentração.
Oftálmica	Ocorre pela projeção acidental durante o manuseio do agente químico ou pela exposição ambiental.	São válidas as observações da via tópica.

Fonte: Greim, 1995[6].

A interação sistêmica ocorre com a absorção do agente químico que, após alcançar a corrente sanguínea, é distribuído para os diferentes tecidos do organismo, podendo ligar-se a sítios específicos, geralmente enzimas, proteínas ou ácidos nucleicos, causando alterações bioquímicas que, por sua vez, acarretam efeitos biológicos. Muitas substâncias sofrem biotransformação no fígado, dando origem a produtos (metabólitos ou de biotransformação) que são distribuídos pelo sangue aos tecidos, podendo também produzir efeitos tóxicos.

A biotransformação dos xenoquímicos ocorre em três fases. Na fase I, conhecida como oxidativa, as substâncias exógenas sofrem reações de oxidação, redução e hidrólise e podem resultar em derivados mais tóxicos do que as moléculas precursoras. Na fase II, conjugativa, os compostos oxidados, reduzidos ou hidrolisados são submetidos à conjugação, o que geralmente atenua sua toxicidade. A fase III, mais recentemente elucidada e investigada, relaciona-se ao transporte dos metabólitos, mais especificamente aos mecanismos envolvidos e aos transportadores de membrana a esses relacionados[7].

As principais vias de eliminação são a hepática e a renal, podendo ser eliminada a substância originalmente absorvida ou os produtos de sua biotransformação[1,3].

Dependendo da dose absorvida, pode haver efeitos adversos, inicialmente em nível bioquímico, ainda sem repercussão clínica (sintomas ou sinais) que, em geral, são reversíveis, não causando maiores danos. Esse tipo de alteração caracteriza a fase pré-clínica e só pode ser detectado por exames laboratoriais. Entretanto, se as doses e/ou o tempo de exposição forem maiores, pode haver repercussão no funcionamento do organismo, levando à manifestação de sintomas (fase clínica). De qualquer forma, nas fases pré-clínica ou clínica, o indivíduo está intoxicado. Portanto, o trabalhador não pode esperar a manifestação de sintomas (alcançar a fase clínica) para ser tratado, visto que esta fase é o final de um longo processo. Apesar dos muitos avanços na área de toxicologia, sobretudo na revelação dos mecanismos de biotransformação, estes ainda não estão totalmente elucidados, bem como as funções dos receptores específicos (xenoreceptores) nas respostas biológicas alteradas desencadeadas por xenoquímicos. Assim, a melhor alternativa é a adoção de medidas preventivas para impedir a instalação da intoxicação em qualquer fase[1,7].

MEDIDAS PREVENTIVAS E DE CONTROLE DA EXPOSIÇÃO A AGENTES QUÍMICOS

A providência ideal no ambiente de trabalho é não permitir que substâncias químicas, capazes de interagir com o organismo causando intoxicação, venham a ter contato com o trabalhador. Em primeiro lugar deve-se verificar a real necessidade de trabalho com essas substâncias químicas e se não podem ser substituídas por outras de menor perigo. Como exemplos, podemos citar a substituição, em numerosas operações, do benzeno por xileno ou tolueno, que são menos perigosos, e o uso de solução alcoólica de hidróxido de potássio 2 M em vez de solução sulfocrômica[2].

As compras devem ser otimizadas, de modo a prever a quantidade necessária para cada trabalho, evitando manter estoques ou sobras de reagentes e solventes. Essas substâncias têm de ser manuseadas em local próprio (se voláteis, em capela, sob exaustão), com ambiente bem ventilado e iluminado, devendo as instalações ser apropriadas e previamente planejadas para as atividades que envolvem agentes químicos perigosos. Os resíduos de laboratório precisam ter sistema adequado de gerenciamento para prevenir seu acúmulo no ambiente de trabalho e preservar o ambiente interno e externo[8].

Nos casos em que, mesmo adotando as medidas anteriores, o ambiente de trabalho ainda possa expor o trabalhador a algum risco de contato, têm de ser fornecidos os equipamentos de proteção individual. Em outras palavras, havendo riscos ao trabalhador, é preciso um grande investimento para seu controle, empregando técnicas de Engenharia do Trabalho, particularmente na área de ventilação e exaustão. O uso de EPIs, como respiradores, precisa ser considerado como recurso provisório ou complementar[1,9].

As situações de exposição ocupacional podem ser monitoradas por meio de controles ambientais e biológicos. O monitoramento ambiental permite saber se o agente químico se encontra dentro de parâmetros seguros de exposição, chamados de limites de tolerância ambiental. Esses limites são definidos pela Norma Regulamentadora n. 15, do Ministério do Trabalho, que trata das atividades e das operações insalubres[10].

Pela NR 15, que abrange agentes físicos, químicos e biológicos, são consideradas insalubres as atividades ou ocupações desenvolvidas acima dos limites de tolerância previstos pela norma e constantes de seus anexos (Quadro 3), comprovados por laudos de inspeção do local de trabalho, estes últimos também estabelecidos nos Anexos 7 a 10 da mesma norma[10].

Os indicadores internacionais mais usados são os *Threshold Limit Value*s (TLVs), da American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH)[13,14].

Quadro 3. Anexos da NR 15 que estabelecem limites de tolerância de exposição do trabalhador a agentes físicos, químicos e biológicos.

Anexo	Tipo de agente para o qual foi estabelecido o limite de tolerância de exposição do trabalhador no ambiente de trabalho
1	Ruído contínuo e intermitente
2	Ruídos de impacto
3	Exposição ao calor
4	Revogado pela Portaria MTPS n. 3.751, de 23.11.90 (DOU 26.11.90)
5	Radiações ionizantes
6	Trabalho sob condições hiperbáricas
7	Radiações não ionizantes (micro-ondas, ultravioleta e laser)
8	Vibrações
9	Exposição ao frio (câmaras frigoríficas ou outras)
10	Umidade (trabalho em locais alagados ou encharcados)
11	Agentes químicos cuja insalubridade é caracterizada por limite de tolerância e inspeção no local de trabalho
12	Limites de tolerância para poeiras minerais
13	Agentes químicos. Relaciona diferentes graus de insalubridade (máximo, médio e mínimo) em função do agente químico, com locais e atividades de trabalho
13A	Regulamenta ações, atribuições e procedimentos de prevenção da exposição ocupacional do benzeno
14	Agentes biológicos, cuja insalubridade é caracterizada por avaliação quantitativa

Fonte: Brasil-NR 15a[10]; Pinto, 2001[12].

Os TLVs são valores que relacionam a saúde do trabalhador com o tempo e a concentração de exposição aos agentes químicos, estabelecidos por um comitê voluntário, o Threshold Limit Values Committee, constituído por indivíduos independentes e de conhecimento específico que representa a opinião da comunidade científica. O comitê ancora suas recomendações em conhecimentos publicados na literatura que são sistematicamente revisados em várias disciplinas, como higiene industrial, toxicologia, medicina ocupacional e epidemiologia. Os TLVs não são padrões, mas orientações sobre níveis seguros de exposição para substâncias químicas no ambiente de trabalho[14].

Esses indicadores apresentam-se em tabelas que relacionam o agente químico a limites de sua quantidade/concentração em ppm (partes de vapor ou gás por milhão de partes de ar contaminado) ou mg/m^3 (miligramas de vapor ou gás por metro cúbico de ar) no ambiente de trabalho, indicam o grau de insalubridade e estabelecem o tempo máximo, em horas semanais, de

*A American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) é uma organização fundada em 1938, na cidade de Washington, e constituída por membros de estados, cidades, universidades americanas e o organismo de vigilância sanitária americano. Surgiu com os objetivos de captar e transmitir informações sobre os riscos ocupacionais nas indústrias americanas, formas de diminuí-los, treinamentos de trabalhadores, cobranças de condições mais seguras aos empregadores, entre outras atividades, todas visando melhorar as condições de trabalho. Atualmente é uma instituição conceituada, mantida como fundação e considerada referência internacional. Mantém nove comitês de especialistas nas mais diversas áreas de saúde do trabalho, dentre os quais podem ser citados os comitês que tratam da saúde e segurança na agricultura, dos instrumentos de amostragem do ar, de bioaerossóis, da ventilação industrial e dos índices de exposição biológica, como os valores máximos para exposição a substâncias químicas (TLVs-CS) e os valores máximos para exposição a agentes físicos (TLVs-PA).

exposição à concentração-limite. Mesmo respeitando os limites máximos permitidos, é preciso verificar se há efeitos bioquímicos resultantes da exposição, o que é realizado com o monitoramento biológico.

O monitoramento biológico é realizado pela medida periódica de um indicador biológico, conhecido como biomarcador de exposição, que se constitui de um xenobiótico (ou produto de sua metabolização) quantificado no sangue – ou em um outro compartimento do organismo – e que pode ser relacionado com a concentração e o tempo de exposição do indivíduo. Um dos principais objetivos do monitoramento biológico é determinar quanto do xenobiótico foi absorvido, biotransformado em outros compostos ativos ou acumulado em tecidos específicos em função da exposição ao agente químico, com a finalidade de detectar possíveis riscos à saúde. O monitoramento biológico também é utilizado para avaliação e redefinição dos limites de exposição ambiental, tanto no local de trabalho, como no meio ambiente em geral[15].

A escolha de um bom biomarcador inclui a facilidade de coleta do organismo por meio de fluidos biológicos acessíveis, como sangue, plasma, urina, saliva, cabelo, dentina, entre outros. Outra característica importante é que cada biomarcador possa ser correlacionado com apenas um xenobiótico. Uma vez determinada a concentração do biomarcador nos fluidos ou tecidos biológicos, são estabelecidos valores de referência que estabelecem limites seguros, a partir dos quais o efeito tóxico tem elevado risco de ocorrência. Esses valores de referência, ou limites, são ancorados em dados epidemiológicos da população exposta comparativamente à não exposta ao agente químico. Os limites estão sempre sendo revistos e estudados a partir da literatura da área toxicológica e de dados epidemiológicos publicados por órgãos especializados, governamentais ou não[16]. Na Tabela 1, podem ser observados exemplos de biomarcadores e seus limites máximos (IBMP – índice biológico máximo permitido).

Assim, o monitoramento biológico constitui importante ferramenta de avaliação da interação dos agentes químicos, ou de seus produtos de biotransformação, no organismo, por meio da avaliação e/ou quantificação de bioindicadores presentes nos tecidos (sangue, por exemplo), secreções (saliva), excreções (urina) ou ar exalado, para estimar a exposição ou risco à saúde quando comparado com referência adequada[10].

GRUPO DE AGENTES QUÍMICOS

Os agentes químicos presentes no ambiente de trabalho podem ser divididos segundo o tipo de efeito tóxico potencial. No Quadro 4, as substâncias químicas são apresentadas conforme o risco e o modo de ação.

A seguir, estão apresentados alguns grupos de agentes químicos importantes, do ponto de vista ocupacional, e suas principais características e efeitos gerais no organismo[1,2,17-19].

Gases e vapores

Os gases e vapores podem apresentar dois tipos de efeito: irritante e/ou asfixiante. Os irritantes provocam lesão direta dos tecidos, sobretudo mucosas, desen-

Tabela 1. Agentes químicos, biomarcadores e índices biológicos máximos permitidos (IBMP)

Agente químico	Biomarcador	IBMP	Tecido/fluido para coleta
Acetona	Acetona urinária (Acet-U)	50 mg/L	Urina
Diclorometano	Carboxiemoglobina sanguínea (CoHb) (não fumantes)	3,5%	Sangue
Estireno	Ácido mandélico urinário (Mandel)	0,8 g/g de creatinina *	Urina
	Ácido fenilglioxílico (Gliox)	240 mg/g de creatinina*	
Álcool etílico	Etanol (EtOH-S)	0,2 g/L**	Sangue
Metanol	Metanol (MetOH-U)	15 mg/L	Urina
Chumbo inorgânico	Chumbosanguíneo (Plumbemia / PB-S)	60 mg/dL	Sangue
	Ácido deltamino- Levulínico (Ala-U)	10 mg/g de creatinina*	Urina
	Protoporfirina livre Eritrocitária (Proto/PPE)	300 mg/dL	Sangue
Manganês	Manganês urinário (MN-U)	20 mg/dL	Urina
Monóxido de carbono	Carboxiemoglobina sanguínea (CoHb) (não fumantes)	3,5%	Sangue

*A medida é feita comparativamente à creatinina, uma vez que há variações intra e interindividuais realtivas à excreção urinária.
**O limite de 0,2 g/L de etanol no sangue foi estabelecido para a condução de veículos automotores e está relacionado ao limite de detecção dos métodos analíticos. Para essa finalidade não há limite seguro reconhecido pelas regulamentações de trânsito.
Fonte: adaptado de Toxikón e Brasil-NR 7.

Quadro 4. Agentes químicos segundo o tipo de risco e o modo de ação.	
Agente químico	**Modo de ação**
Substâncias que oferecem risco físico	
Asfixiantes	Os vapores no ambiente causam sufocação
Combustíveis	Queimam quando submetidos a temperaturas entre 70 e 93,3°C
Corrosivos	Queimam quimicamente os tecidos biológicos com os quais têm contato
Explosivos	Explodem repentinamente sob choque, pressão, gás ou calor
Inflamáveis	Queimam quando submetidos a temperaturas inferiores a 70°C
Irritantes	Substâncias não corrosivas que causam prurido, irritação ou inflamação quando em contato com a pele, olhos ou mucosas
Pirofóricos	Queimam espontaneamente no ar a temperaturas abaixo de 100°C
Peróxidos orgânicos	Explodem espontaneamente em virtude da formação de peróxidos instáveis
Oxidantes	Promovem ou iniciam a queima de substâncias combustíveis ou inflamáveis
Reativos com água	Reagem com a água formando gás tóxico ou inflamável
Instável ou reativo	Podem explodir mediante pressão, choque ou aquecimento
Substâncias que oferecem risco para a saúde	
Carcinogênicos	Causam câncer
Mutagênicos	Causam alterações na informação genética hereditária
Venenos	Causam perigo à vida por danificarem tecidos ou órgãos internos em pequenas quantidades
Sensibilizantes	São responsáveis por reações alérgicas após repetidas exposições, com reações adversas severas e risco de morte
Teratogênicos	Provocam más-formações fetais
Tóxicos	Causam perigo à vida e à saúde danificando tecidos ou órgãos internos; entretanto, diferem dos venenos, por atuarem em quantidades maiores

Fonte: adaptado de Erickson, 1996[9], e Brasil-NR 20[24].

cadeando processo inflamatório. Essa categoria pode ainda ser subdivida em irritantes fortes e fracos. Estes últimos, em geral, não têm efeito bem marcado, mas quando presentes em elevadas concentrações geram irritação, independentemente dos efeitos sistêmicos que podem causar. Exemplos são a maioria dos solventes orgânicos que, além dos efeitos sistêmicos específicos, são irritantes. Os solventes orgânicos serão abordados mais adiante.

Os *irritantes fortes*, representados pelos ácidos, álcalis e oxidantes fortes, causam inflamação mesmo em pequenas concentrações. A maioria não causa efeitos sistêmicos, apenas interações superficiais com pele e mucosas. Ácido clorídrico (vapor), ácido fluorídrico, cloro gasoso, óxidos de enxofre e de nitrogênio, amônia e ozônio são exemplos. Seus efeitos principais em pequenas concentrações são desconforto e ardor ocular, rinite, rinorreia, traqueíte e bronquite com tosse, dispneia, desconforto respiratório e sensação de opressão torácica. Em altas concentrações podem levar rapidamente à morte por edema agudo de pulmão. Em geral, o efeito é instantâneo; entretanto, pode ser tardio, manifestando-se após horas da exposição. Por exemplo, o fosgênio ($COCl_2$), gás clorado incolor e inodoro, pode causar grave edema agudo de pulmão 12 horas após a exposição, pois entra no organismo pelo trato respiratório e, no pulmão, transforma-se em ácido clorídrico, responsável pela ação irritante.

Os *asfixiantes* podem ser subdivididos em asfixiantes simples e químicos. Os *asfixiantes simples* não têm interação alguma com o organismo, são gases inertes e atuam pelo simples fato de deslocar ou substituir o oxigênio do ar, em locais confinados, levando à sua falta, cujos efeitos são tanto mais intensos quanto maior sua concentração no ambiente, podendo ocasionar a morte. De acordo com o item 3, do Anexo 11, da NR 15[10], a simples presença desses gases no ambiente de trabalho, obriga ao monitoramento da porcentagem de oxigênio no ar, que não deve ser inferior a 18% em volume. Situações em que a porcentagem de oxigênio se encontra abaixo desse limite são consideradas de risco grave e iminente.

São exemplos de asfixiantes simples: metano, nitrogênio, hélio, dióxido de carbono, hidrogênio e argônio. Os *asfixiantes químicos* interagem com o organismo em baixas concentrações, com a hemoglobina ou o ferro, retirando oxigênio ou bloqueando sua utilização em nível tecidual (sangue). A essa categoria pertencem o monóxido de carbono – que se liga à hemoglobina e desloca o oxigênio, impedindo seu transporte aos te-

cidos –, e o gás cianídrico (ou cianeto de hidrogênio), que pode ser gerado pela reação de sais solúveis como cianeto de potássio ou de sódio em meio ácido. O íon cianeto liga-se com o ferro^{3+} do citocromo, bloqueando o uso do oxigênio nos tecidos e à formação de ATP (trifosfato de adenosina) nas células.

Solventes orgânicos

São substâncias líquidas, orgânicas, voláteis, pertencentes a diversos grupos químicos. Possuem funções orgânicas como cetonas, ésteres, alcoóis, éteres, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, derivados halogenados, compostos nitroaminos, glicóis, entre outras. São fatores importantes a se considerar nessa categoria de substâncias:

a. As características físico-químicas: quanto maior a pressão de vapor e menor a temperatura de ebulição, mais volátil será o solvente;
b. A superfície de evaporação: quanto maior a superfície exposta ao ar, maior a quantidade evaporada para o ambiente;
c. Coeficiente de partição óleo/água: solventes praticamente insolúveis em água (carbonetos alifáticos, por exemplo) são menos absorvidos que aqueles com maior hidrofilia (alcoóis, cetonas e ésteres);
d. Carga física do trabalhador: quanto maior a ventilação pulmonar, maior a quantidade que atingirá o aparelho respiratório.

A principal via de absorção é a respiratória, entretanto os solventes orgânicos também podem ser absorvidos pela pele. Pela via pulmonar, os solventes orgânicos atingem o alvéolo, atravessam a barreira alveolocapilar por difusão simples e atingem o sangue, onde são transportados a todos os tecidos. Conforme o coeficiente de partição do solvente haverá maior ou menor afinidade por determinados tecidos. Em geral, quanto mais hidrofóbico o solvente, maior a tendência em se depositar no tecido adiposo e sistema nervoso central. São biotransformados principalmente no fígado, mas também há ação bioquímica pulmonar e renal, além de outros tecidos. Podem ser eliminados sem modificação ou biotransformados pelos rins ou pela via respiratória.

Os efeitos dos solventes podem ser divididos em agudos ou inespecíficos e crônicos ou específicos.

Os efeitos agudos são iguais para praticamente todos os solventes, aparecendo durante a exposição e desaparecendo devagar após a exposição. São característicos da exposição a doses relativamente altas e em geral não têm tratamento específico, bastando retirar o indivíduo da área contaminada ou da exposição, para que os efeitos sejam revertidos. O principal efeito é a depressão do sistema nervoso central (SNC) que, dependendo da dose, pode acarretar desde uma leve diminuição dos reflexos e vigília até coma e parada cardiorrespiratória, no caso de ambientes confinados, com elevadas concentrações. As manifestações nos trabalhadores incluem cefaleia, sonolência e fadiga. Concentrações maiores levam à ocorrência de tonturas, náuseas e perda do autocontrole, confusão mental, desorientação, diminuição da coordenação motora e parestesia (sensações anormais como formigamento, picada ou queimadura), em doses maiores.

Os efeitos crônicos, ao contrário dos agudos, são causados pela exposição a pequenas doses ou concentrações, entretanto em longo prazo. O tipo de efeito varia conforme o solvente; portanto, é importante caracterizar bem o agente químico ao qual o trabalhador está exposto para buscar em literatura apropriada as consequências de cada um, em particular. A seguir, são apontados alguns exemplos de efeitos crônicos de solventes mais comuns.

N-hexano (ou benzina)

Via de absorção principal: pulmões.

Efeitos: após três meses de exposição regular, a exposição a altas doses causa neuropatia sensitivo-motora (parestesia e diminuição de força nas extremidades dos membros inferiores, até anestesia e paralisia com o pé caído), que pode ser reversível com fisioterapia e afastamento do trabalho por 18 a 24 meses.

Prevenção: monitoramento ambiental: máximo 50 ppm para oito horas de trabalho e monitoramento biológico.

Solventes clorados (clorofórmio, tricloroetileno, tetracloroetileno, tetracloroetano, diclorometano)

Via de absorção principal: pulmões.

Efeitos: lesão renal e hepática, uma vez que no processo de biotransformação são oxidados conduzindo à formação de fosgênio que, por sua vez, após hidrólise, gera ácido clorídrico nos tecidos (principalmente do fígado e dos rins), levando à hepatotoxicidade que pode evoluir para esteatose, fibrose hepática e hepatite tóxica.

Prevenção: monitoramento ambiental e biológico.

Benzeno

A utilização do benzeno está proibida desde 1º de janeiro de 1997, após publicação do Anexo 13-A da NR 15[11], que permite o emprego desse solvente somente nas indústrias e nos laboratórios que:

a. Produzem benzeno;
b. Utilizam benzeno em processos de síntese química;
c. Empregam o solvente em combustíveis derivados de petróleo;
d. Empregam o solvente em trabalhos de análise ou investigação realizados em laboratórios, quando não for possível sua substituição;
e. Utilizam benzeno na obtenção de álcool anidro, até que seja sua substituição para esse fim seja feita.

Adicionalmente, as empresas que comercializam ou transportam benzeno diluído ou em misturas com concentrações acima de 1% devem ser cadastradas no Departamento de Saúde e Segurança no Trabalho do Ministério do Trabalho e Emprego[20].

Via de absorção principal: pele íntegra e pulmões.

Efeitos: mielotóxico potente, podendo causar hipoplasia ou displasia de medula que podem levar a alterações de hemograma. É cancerígeno, causando leucemias e linfomas em concentrações abaixo de 1 ppm. Qualquer desses efeitos pode aparecer mesmo depois de cessada a exposição.

Prevenção: este solvente foi banido da indústria de colas, tintas, vernizes, tíneres etc., em quase todo o mundo. Evitar a exposição do trabalhador.

Tolueno e xileno

Via de absorção principal: pele íntegra (muito pouco) e pulmões.

Efeitos: hepatotóxicos e nefrotóxicos em menor grau que os solventes clorados e neurotóxicos – apenas o tolueno (pode afetar o feixe nervoso do ouvido causando alterações de audição).

Prevenção: monitoramento ambiental e biológico.

Metais pesados

Os metais pesados podem se apresentar na forma metálica – Hg^0, Mn^0, Cd^0, Cr^0, Zn^0, Pb^0; oxidados, constituindo sais e óxidos metálicos (ligados por ligações iônicas) – PbO, $PbCl_2$; ou participar de ligações covalentes com compostos orgânicos formando compostos organometálicos (R-Metal), como o chumbo tetraetila [$Pb–(CH_3\text{-}CH_2)_4$].

Os metais na forma metálica podem interagir com o organismo por meio da inalação de fumos metálicos quando aquecidos a altas temperaturas – o aquecimento leva à formação de uma mistura complexa de substâncias com predominância de óxidos de metais formados pela reação com o oxigênio do ar – ou de poeira e partículas metálicas quando lixados.

As formas iônicas dos metais (sais e óxidos), quando manuseadas industrialmente, geram grande quantidade de poeira no ambiente, que pode ser absorvida pelos tratos digestivo e respiratório. A ingestão em geral se dá de forma indireta, pela contaminação de alimentos ou cigarros consumidos ou armazenados no ambiente de trabalho, pela falta de higiene com as mãos ou pelo uso de indumentária de trabalho contaminada pela poeira nas refeições. A absorção por via respiratória é mais significativa do ponto de vista ocupacional e tanto mais intensa quanto maior a solubilidade em água do composto iônico. Pela pele não há absorção dessa forma metálica, entretanto podem ocorrer alergias devido à hipersensibilidade a metais, como no caso do cromo e do níquel, que causam dermatite alérgica.

Como as formas orgânicas dos metais são geralmente voláteis e lipossolúveis, elas podem ser absorvidas pelas vias cutânea, respiratória e digestiva. Esse grupo de compostos, entre os quais está o metilmercúrio, não tem grande importância do ponto de vista da saúde ocupacional, mas sim em tecnologia ambiental, podendo ocasionar grandes desastres ambientais.

Efeitos gerais dos metais pesados

Os metais pesados são lentamente absorvidos, entretanto acumulam-se no organismo, acarretando aumento gradativo da concentração do metal nos tecidos. Em geral, ligam-se a moléculas dos tecidos como os grupos sulfidrilas (S-H) das proteínas. Alguns têm afinidade específica por algum tecido, como o chumbo inorgânico pelo tecido ósseo e o cádmio pelo córtex renal. O acúmulo no organismo é derivado da lenta eliminação dos metais pesados que, portanto, possuem alta meia-vida biológica: o chumbo no osso tem meia-vida de 20 anos, enquanto a do cádmio no rim é de 15 anos. A via de eliminação principal é a renal, podendo também ser eliminados nas fezes, no suor, pela descamação cutânea ou, ainda, com o crescimento de fâneros.

Os efeitos específicos dependem do metal e da forma como se apresenta, bem como do tipo de exposição. Trabalhadores de minas e fundição de metais estão mais expostos a poeiras e fumos. Outros ramos de atividades envolvidas no manuseio de metais e os principais efeitos estão descritos a seguir.

Chumbo inorgânico: é utilizado em indústrias químicas de tintas, vernizes, componentes eletrônicos, revestimentos de pisos, cerâmicas e azulejos, funilaria de automóveis, indústria gráfica, soldas, fabricação de vidros e cristais. As manifestações clínicas da intoxicação por esse metal são observadas em uma série de órgãos e sistemas. Alterações neurológicas, gastrintestinais, renais e hematológicas são as principais. O quadro clínico

é chamado de saturnismo e divide-se em dois tipos: subagudo e crônico. No caso mais extremo e comum, os principais sintomas são irritabilidade, fraqueza, cólica, constipação, impotência sexual, palidez cutânea e anemia. Aparece uma linha azul-escura entre a gengiva e os dentes (sinal de Burton), constituída de sulfeto de chumbo – reação entre o chumbo proveniente dos capilares e do sulfeto oriundo do metabolismo dos microrganismos da boca – e alterações da função renal (vasoconstrição arteriolar), levando a insuficiência renal e paralisia motora (punho caído).

Manganês: é empregado na fabricação de ferro-ligas, na produção de pilhas e pesticidas e como matéria-prima na indústria química. O manganês inorgânico é absorvido principalmente por via respiratória e, por mecanismo ainda não bem esclarecido, causa danos irreversíveis nos neurônios dopaminérgicos (base do cérebro). Os sintomas começam com alterações de humor (crises de choro alternadas com crises de riso), perda de equilíbrio (com quedas sem tonturas), alterações de marcha (passo de bailarina), impotência sexual, pesadelos, atos compulsivos e alucinações. Mesmo com o afastamento do trabalhador à exposição, o quadro continua se agravando, chegando ao estado de paralisia espástica total (nesse estágio recebe o nome de manganismo e é muito semelhante à Doença de Parkinson).

Mercúrio metálico: é utilizado na fabricação de instrumentos de precisão (termômetros, barômetros), na produção de lâmpadas fluorescentes e de vapor de mercúrio, como matéria-prima na indústria química, na fabricação de compostos mercuriais e de soda cáustica. A absorção se dá pela pele e via respiratória (é um líquido muito volátil). Causa danos ao SNC, pois atravessa a barreira hematoencefálica (é lipossolúvel), onde se acumula. Em baixas concentrações o único sinal é o gosto metálico na boca e, eventualmente, parestesias difusas. Doses maiores causam perda de memória recente e da capacidade de concentração, habilidade mecânica, coordenação motora e alterações de comportamento. Nessa fase o quadro de intoxicação é chamado de micromercurialismo. Se houver continuidade da exposição, agravam-se essas alterações, aparecendo tremores semelhantes aos parkinsonianos, chegando a quadros psiquiátricos, com depressão e paranoia, em geral irreversíveis.

Cádmio: é empregado na fabricação de baterias recarregáveis, ligas especiais e pigmento em tintas. A intoxicação com esse metal ganhou importância com sua aplicação recente em telefonia celular. É tóxico aos rins (lesão tubular e glomerular), pois se acumula no córtex renal, aos pulmões (enfisema, fibrose e doença pulmonar obstrutiva crônica) e é cancerígeno (câncer de pulmão e próstata).

Cromo: é usado em tratamentos de superfície (cromagem), em ligas metálicas (aço inoxidável) e entra na composição de pigmentos. O cromo VI é cancerígeno (brônquios), causa lesões na pele e mucosas (perfuração de septo nasal em trabalhadores de galvanoplastias);

Zinco: é utilizado na fabricação de ligas metálicas (latão), na zincagem de superfícies metálicas para proteção, pigmentos, revestimentos de pilhas e em peças elétricas e eletrônicas, revestimentos de telhados e calhas. A exposição ao fumo de zinco leva a um quadro de febre acompanhado de leucocitose. É um quadro benigno e limitado a algumas horas, em virtude da liberação de pirogênio endógeno.

IDENTIFICAÇÃO DOS RISCOS NO LABORATÓRIO E FORMAS DE PREVENÇÃO

Um programa de prevenção de acidentes em laboratório químico deve incluir uma série de medidas, entre as quais a elaboração dos comumente denominados procedimentos operacionais padrão (POP) para manuseio e descarte, o armazenamento adequado das substâncias químicas e critérios para identificação e transporte.

Os manuais de PQP para realização das diferentes tarefas que empregam agentes químicos descrevem em detalhes os procedimentos para manuseio das substâncias químicas e devem ser claros e redigidos por escrito, incluindo a forma de descarte dos resíduos. Por exemplo, o protocolo de uma análise química precisa incluir todos os procedimentos para preparo e manuseio dos reagentes, onde acondicioná-los e manuseá-los e sob que forma. Após análise, onde deverão ser colocados os resíduos e como deverão ser acondicionados e identificados. Todo o pessoal envolvido nas rotinas do laboratório, inclusive o pessoal de apoio, terá de ser treinado e adotar os POP para manuseio, descarte e lavagem de material[5,21].

O adequado armazenamento de substâncias químicas inclui a verificação de incompatibilidades entre os agentes químicos, o uso de material de acondicionamento apropriado, a identificação correta dos materiais, a indicação do prazo de validade e a caracterização do grau de risco.

Cada substância química deve receber um rótulo com as informações necessárias para seu armazenamento, manuseio e descarte adequados. Não é possível que os técnicos tenham, de memória, todas as informações sobre determinadas substâncias químicas, portanto, o rótulo precisa ser objetivo e conter o máximo de informações para tornar seu manuseio o mais seguro possível. Informações sobre volatilidade, inflamabilidade, poder de oxidação, entre outras, devem ser realçadas[22].

O Mapa de Risco do local de trabalho é, também, um grande indicativo do tipo de acidente de trabalho ao qual o trabalhador está exposto[25]. Além da exposição química, outros fatores como agentes físicos, biológicos e ergonômicos podem ser sinalizados e também indi-

cados os níveis de exposição a cada agente, conforme a gravidade. Assim, o Mapa de Risco pode ser definido como a representação gráfica dos riscos presentes no local de trabalho aos quais estão submetidos os trabalhadores e que podem afetar a sua saúde (ver capítulo "Biossegurança em laboratórios").

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Buschinelli JTP. Agentes químicos e intoxicações ocupacionais. In: Ferreira Jr M. Saúde no trabalho. Temas básicos para o profissional que cuida da saúde dos trabalhadores. São Paulo: Roca, 2000, p. 138-75.
2. Hachet JC. Toxicologia de urgência: produtos químicos industriais. Trad. Rosilea Pizarro Carnelos. São Paulo: Andrei, 1997.
3. Derelanko MJ. Risc assessment. In: CRC Handbook of toxicology. Nova York: CRC Press, pp. 591-676, 1995.
4. Zakrzewski SF. Principles of environmental toxicology. 2. ed. Washington: American Chemical Society, 1997.
5. Consiglieri VO. Riscos ocupacionais devidos aos agentes químicos. In: Manual de segurança em laboratório. São Paulo: FCF/USP, 2001, p. 23-37.
6. Greim H, Lehnert G, editors. DFG biological exposure values for occupational toxicants and carcinogens: critical data evaluation for BAT and EKA values. v. 2. Weinheim: Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1995, p. 3-12.
7. Omiecinski CJ, Vanden Heuvel JP, Perdew GH, Peters JM. Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. Toxicological Sciences, 2011;120(S1): S49-S75.
8. Ferreira JA. Resíduos de laboratório. In: Teixeira P, Valle S (orgs). Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1996, p. 191-208.
9. Erickson PA. Occupational health and safety. San Diego: Academic Press, 1996.
10. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n. 15 (NR 15a) – Atividades e Operações Insalubres. Anexo 11. Agentes químicos cuja insalubridade é caracterizada por limite de tolerância e inspeção no local de trabalho. Disponível em: http://www.mte.gov.br. Acesso em: 23.03.2011.
11. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n.15 (NR 15b) – Atividades e Operações Insalubres. Anexo 13. Agentes químicos. Disponível em: http://www.mte.gov.br. Acesso em: 23.03.2011.
12. Pinto CASO. Aspectos legais da segurança em ambiente de trabalho e conscientização. In: Manual de segurança em laboratório. São Paulo: FCF/USP, 2001, p. 1-26.
13. Quigley DR. Handbook of emergency chemical management. Boca Raton: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 1994.
14. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Disponível em: http://www.acgih.org/tlv/. Acesso em: 18.04.2011.
15. Kuno R, Roquetti MH, Umbuzeiro GA. Indicadores biológicos de exposição: ocupacional x ambiental. INTERFACEHS – Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente. 2009;4(1):1-13.
16. Lu PY, Wassom JS. Information resources for chemical toxicology and regulation. Journal of Hazardous Materials. 1994;39:225-43.
17. Santoro MIRM. Manual de segurança. São Paulo: FCF/USP, 1985, p. 17-26.
18. Lefèvre MJ, Becker EI. First-aid manual for chemical accidents. Nova York: Van Nostrand Reinhold, 1980.
19. Furr AK. CRC Handbook of laboratory safety. 4. ed. Boca Raton: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 1995.
20. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria n. 203 de 28 de janeiro de 2011 (DOU de 01.02.2011 – Seção 1 – p. 180). Altera o Anexo 13-A (Benzeno) da Norma Regulamentadora n. 15 (Atividades e Operações Insalubres). Disponível em: http://portal.mte.gov.br. Acesso em: 23.03.2011.
21. Torres RP. Boas práticas de laboratório. In: Manual de segurança em laboratório. São Paulo: FCF/USP, 2001, p. 102-8.
22. Barros RMC. Armazenagem de produtos químicos e incompatibilidades. Simbologias de risco para produtos químicos. In: Manual de segurança em laboratório. São Paulo: FCF/USP, 2001, p. 71-101.
23. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n. 7 (NR7) – Programa de Controle Médico Ocupacional. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/nr_07_at.pdf. Acesso em: 23/03/2011.
24. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n. 20 (NR20) – Líquidos Combustíveis e Inflamáveis. Disponível em: http://www.mte.gov.br. Acesso em: 23/03/2011.
25. Mattos UO, Queiroz AR. Mapa de risco. In: Teixeira P, Valle S (orgs). Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1996, p. 111-22.

capítulo 12

Biossegurança em biotérios

Silvânia M. P. Neves
Luziane C.A. Guinski Chaguri
Renata Spalutto Fontes
Flávia de Moura Prates Ong

INTRODUÇÃO

O conceito de segurança biológica originalmente surgiu dentro do contexto de segurança para atividades ligadas à microbiologia e, aos poucos, foi se estendendo a todos os âmbitos laboratoriais em que exista contato e/ou manejo de agentes biológicos que possam propiciar riscos a pessoas e animais[1]. Dessa forma, o objetivo da segurança biológica é duplo: por um lado, o de reduzir a exposição de pessoas que manipulam as mais variadas formas de agentes biológicos, com os mais diversos tipos de trabalho; por outro, o de prevenir a saída desses agentes biológicos e/ou animais de dentro dos sistemas de contenção utilizados como barreira de segurança[2].

Biotérios, ou instalações que alojam animais experimentais, sendo um tipo especial de laboratório, utilizam critérios comparáveis quanto aos níveis de biossegurança (instalações, práticas padronizadas e procedimentos operacionais) recomendados para trabalhar com agentes infecciosos e/ou organismos geneticamente modificados (OGM). Entretanto, um biotério apresenta problemas únicos: as atividades com os animais podem ser potencialmente perigosas; nele são gerados aerossóis e alérgenos; e os funcionários estão sujeitos a mordidas ou arranhões de animais que podem estar infectados com agentes causadores de doenças, podendo estar sujeitos até mesmo à ocorrência de zoonoses.

Nas últimas décadas, o aperfeiçoamento da biologia e da engenharia genética permitiu um rápido desenvolvimento de técnicas para criação de animais transgênicos[3]. Gordon e Ruddle[4] foram os primeiros a aplicá-las, utilizando camundongos e, em seguida, outras espécies, acarretando um número cada vez maior no uso de animais modificados geneticamente e de suas aplicações tecnológicas.

Desse modo, tornou-se imprescindível o estabelecimento de critérios que garantam a qualidade do animal aliado a um nível de segurança. Para tanto, é importante que sejam seguidas normas preconizadas, no Brasil e no exterior, adequadas ao tipo de animal e instalação utilizada, contidas no Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; no National Research Council (NRC)[5]; no Biosafety in Microbiological and Biomedical LaboratoRies; no National Institute of Health (NIH)[6]; no Manual para Técnicos em Bioterismo COBEA-FINEP[7]; e no Manual de Biossegurança[8]. Em se tratando da regulamentação de manipulação de OGM da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), o Decreto 5.591 e a resolução normativa n. 2 são fundamentais para a ciência de animais de laboratório, pois regulamentam os itens de atribuições da CTNBio, a classificação de riscos de OGM, os níveis de biossegurança e as normas para instalações físicas e procedimentos para atividades e projetos que envolvam organismos geneticamente modificados. A CTNBio é uma instância colegiada multidisciplinar, com a finalidade de prestar apoio técnico consultivo e assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança relativa aos OGM, bem como no estabelecimento das normas técnicas de segurança e pareceres técnicos conclusivos referentes à proteção da saúde humana, dos organismos

vivos e do meio ambiente, para atividades que envolvam construção, experimentação, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, armazenamento, liberação e descarte de OGM e derivados.

INSTALAÇÕES

Os critérios utilizados para projetos que visam à biossegurança em salas de animais devem propiciar o controle da contaminação e prevenção de contaminação cruzada, por meio do controle ambiental e sanitário. As recomendações sobre biossegurança para instalações que contêm animais incluem critérios de construção[9] e instalação de sistemas de ventilação adequados para promover o bem-estar do animal e funcionar como barreiras para o controle de contaminações. Os biotérios devem ser projetados de forma a atender as recomendações para a criação ou manutenção de animais, a fim de minimizar os efeitos do meio ambiente nas variáveis do animal[10,11].

O projeto de construção deve estabelecer fluxos operacionais entre pessoas, animais e materiais, mediante um *layout* com áreas "limpas/sujas", minimizando interferências na qualidade e na segurança. Quanto aos sistemas de ventilação, estes devem estar capacitados para renovar 100% do ar[12] e ser gerenciados por monitoramento automatizado, indicando a diferença de pressão entre as áreas e possuindo um sistema de alarme que deverá ser acionado quando ocorrer alguma irregularidade. Dessa forma, o ambiente terá suas variáveis ambientais como temperatura, umidade e trocas de ar monitoradas continuamente, e também o controle sobre poluentes, odores e contaminantes aerógenos.

A qualidade do ambiente em que o animal se encontra confinado pode também ser alterada pelo tipo de gaiola utilizado. A densidade populacional na gaiola, o tipo de material utilizado como cama na gaiola dos animais e o esquema de troca de cama podem alterar as variáveis como a temperatura e a umidade no microambiente, tendo influência direta na geração de gases poluentes como o CO_2 e o gás amônia[13]. Pode-se dizer que os fatores ambientais que mais influenciam na qualidade das respostas dos trabalhos experimentais são temperatura, umidade relativa, ventilação, intensidade da luz, fotoperíodo, ruídos, gases e substâncias particuladas[11,14,15].

Barreiras de controle

Dentro do contexto de criação e manejo de animais de laboratório, a palavra *barreira* consiste em estruturas físicas ou complexo de estruturas que separam os animais de um ambiente geral em ambientes específicos, que propiciam determinada proteção aos animais pelos riscos de contaminação do ambiente externo ou, o inverso, protegem o ambiente de contaminantes e de possíveis escapes de animais manipulados experimentalmente. Uma barreira pode ser desde uma parede construída em um biotério convencional até isoladores para animais *germ-free*[9,16]. A própria distribuição do ar no biotério, através da passagem do fluxo de ar por filtros que retêm contaminantes, pode funcionar como barreira sanitária.

Sistema de barreiras locais

O desenvolvimento de diversos sistemas de barreiras locais teve, inicialmente, o objetivo de promover proteção aos animais contra infecções, tornando-se, depois, um instrumento importante para proteger a saúde dos trabalhadores.

Isoladores

Um isolador consiste em um sistema fechado de alojamento que garante a manutenção do padrão sanitário e genético das linhagens de animais de laboratório e é um sistema seguro de contenção, sendo extensivamente usado para alojar animais microbiologicamente definidos[17]. Quando adaptados para funcionarem com pressão negativa, são adequados para proteger os trabalhadores contra substancias alergênicas e contaminantes. Existem vários tipos de isoladores, sendo os flexíveis confeccionados em PVC laminado os mais usados[18]. Os testes de integridade de isoladores[19] devem constar nos manuais operacionais.

Estantes ou gabinetes ventilados

Consiste em um sistema de ventilação de ar forçado por motores ventiladores, instalados dentro de gabinetes que alojam animais. Em geral, induz a um fluxo unidirecional de ar forçado para o interior das gaiolas, ventilando-as individualmente. As estantes ventiladas foram desenvolvidas a partir da observação de que o ambiente da sala de animais (macroambiente), mesmo sob a influência de um sistema de ventilação eficiente, diferia do ambiente (ou microambinete) do interior das gaiolas de animais[20]. No sistema de estantes ventiladas ou microambiental, as caixas são ventiladas individualmente por um fluxo unidirecional de ar[21,22], o que propicia a retirada de poluentes produzidos pelo metabolismo dos próprios animais, diminuindo em particular a concentração de gás de amônia[23,24], que é potencialmente perigoso para animais e seres humanos[25]. Os baixos níveis de concentração dos gases poluentes no interior da gaiola reduzem a frequência de troca de cama das gaiolas[24]. Entretanto, seu uso não garante sucesso quanto ao controle de contaminação. Tal controle está na dependência dos cuidados em seguir os procedimentos de rotina associados com seu uso[13].

Microisoladores

Os sistemas de alojamento para animais utilizando microisoladores, que consiste em gaiolas com tampas-filtro funcionando como barreiras, tornaram-se populares rapidamente pelo tipo de alojamento "contido" que proporciona. Contudo, a barreira que cria restringe o fluxo de ar ventilado impedindo o fluxo de ar para o interior da gaiola do animal, ocasionando um acúmulo de gases como o de amônia, além de alta temperatura e umidade no microambiente[26,27]. Martinewski et al.[28] descrevem o uso de caixas microventiladas com geração de fluxo de ar interno promovido pela instalação de microventiladores de corrente contínua, o qual se mostrou eficiente para a retirada de gás de amônia do interior da gaiola, bem como promoveu um melhor estado sanitário do animal alojado.

Autoclaves

Equipamento utilizado para a esterilização de materiais e insumos do biotério por meio de calor sob pressão. O fator da esterilização se dá através do calor úmido em forma de vapor saturado sobre pressão.

As autoclaves para áreas limpas devem possuir dupla porta com intertravamento para que não haja contaminação entre áreas "limpas e sujas". Em biotérios de produção, quase todos os materiais são passados por autoclave, como exemplos tem-se gaiolas, maravalha, grades, bebedouros, entre outros. Para biotérios de experimentação, esse equipamento também funciona como forma de descontaminação de materiais contaminados.

PADRONIZAÇÃO DOS ANIMAIS

A avaliação do animal a ser usado pelo pesquisador deve incluir a padronização genética como origem das matrizes e a definição do padrão genético e das técnicas para o controle genético das linhagens utilizadas. Quanto ao aspecto sanitário, também é importante a origem das matrizes com padrão sanitário comprovado por atestado emitido pelo fornecedor e o estabelecimento de técnicas para monitoração sanitária dos animais.

As várias técnicas de monitoramento dos parâmetros genéticos, sanitários e nutricionais dos animais, aliadas ao controle de variáveis ambientais, asseguram a confiabilidade e a reprodutibilidade dos experimentos:

a. Padronização genética: criação e manutenção de linhagens isogênicas, congênicas e geneticamente definidas. Mutantes e animais geneticamente modificados (*Scid, Xid, Knock-out,* transgênicos)[29]. As linhagens de ratos e camundongos geneticamente definidas ou modificadas devem ser certificadas quanto à sua genética com periodicidade. Os centros de pesquisa devem estabelecer um programa de monitoração genética, incluindo desde a organização de uma colônia até os métodos moleculares que podem fornecer um grande número de informações genéticas em curto prazo de tempo. Existem vários métodos para monitoração genética, a saber: coloração de pelagem, transplante de pele, marcadores bioquímicos, marcadores imunológicos e métodos moleculares, que, atualmente, podem substituir os outros métodos.
b. Padronização sanitária: os animais de laboratório são classificados em diversas categorias sanitárias, baseadas em noções qualitativas e quantitativas de ausência ou limitação de microrganismos. Em biotérios convencionais controlados, o estabelecimento de técnicas microbiológicas e parasitológicas[30] permite um controle sanitário do animal, cujo objetivo é obter e manter primeiramente animais livres de microrganismos que causem zoonoses, seguido de patógenos específicos fatais para animais e de patógenos que possam provocar alterações em resultados experimentais ou em testes para controle de inocuidade e de eficácia de produtos biológicos. Em biotérios com barreiras, é possível manter animais livres de patógenos específicos (SPF), livres de vírus ou gnotobióticos, em que tanto o animal quanto o trabalhador estão menos expostos à contaminação[17,30]. O programa de controle sanitário das colônias inicia-se na implantação de rotinas e procedimentos com barreiras adequadas ao tipo de biotério em questão. O estabelecimento de barreiras minimiza ou elimina qualquer tipo de contaminação por patógenos indesejáveis. É necessário estabelecer o controle sanitário das colônias por meio de exames parasitológico, bacteriológio, virológico e micológico periodicamente.
c. Padronização nutricional: a dieta balanceada dos animais de laboratório contém, aproximadamente, 50 nutrientes essenciais e em proporções adequadas, dando condições ao animal de atingir seu potencial genético, reprodutivo, de crescimento, longevidade e resposta a estímulos[31,32]. Cada espécie tem necessidades especiais de nutrientes. Sendo assim, as dietas são padronizadas e oferecidas em forma de péletes para ratos e camundongos e granulada para coelhos e cobaias.

Padrão sanitário de organismos geneticamente modificados

A tecnologia transgênica apresenta diversas aplicações, em vários campos. O uso de animais de laboratório-

rio geneticamente modificados possibilita uma redução no número de animais utilizados e, ao mesmo tempo, pode substituir espécies geneticamente mais próximas do homem por animais de pequeno porte, como ratos e camundongos modificados, possibilitando o estudo de doenças humanas com a maior especificidade dos modelos desenvolvidos a cada dia.

O camundongo é o animal de laboratório de escolha para manipulação genética por ser uma espécie de pequeno tamanho, fácil manuseio e menor custo de manutenção quando comparado com outras espécies de laboratório[33], além da disponibilidade da sequência completa de seu genoma já finalizada que mostrou grande similaridade com o homem.

Os aspectos relativos à qualidade sanitária devem ser considerados criteriosamente, da mesma forma que se trata com os animais não transgênicos. Algumas transgêneses modificam o sistema imunológico. Nesse caso, os animais devem ser tratados da mesma forma que animais não transgênicos imunodeprimidos, ou seja, devem ser isolados o máximo possível para que não se contaminem. Como são animais difíceis de obter e de reproduzir, justifica-se obter o melhor padrão sanitário possível para não ocorrerem perdas desnecessárias[34]. O biotério de experimentação deve ter salas para quarentena ou sistemas de isolamento, ou mesmo isoladores para receber animais manipulados com organismos geneticamente modificados ou, então, infectados. Cada biotério deverá tomar as medidas de acordo com os critérios determinados por sua instituição.

Para assegurar a qualidade genética desses animais, deve-se preservar o *background* genético e as mutações da linhagem e, consequentemente, assegurar as características de cada linhagem. Para isso, é necessário estabelecer um controle rigoroso da manutenção das colônias, estabelecendo protocolos específicos de genotipagem, que devem ser seguidos a cada geração.

A avaliação dos aspectos éticos e tecnológicos, bem como o cuidado e manejo de animais transgênicos[34], devem ser realizados pelo pesquisador para assegurar que seu uso siga as normas estabelecidas pela Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e pela CTNBio.

NORMAS DE HIGIENE

A prática de higiene é a ação mais importante para prevenir doenças associadas ao trabalho[7]. O trabalhador deve desenvolver hábitos compatíveis com os procedimentos descritos no manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), estabelecido para o nível de segurança de seu biotério. As práticas de higiene têm três funções básicas:

a. Proteção do funcionário;
b. Proteção e prevenção de doenças relacionadas com animais;
c. Proteção dos objetivos do experimento[19].

A higiene pessoal é uma importante barreira contra a infecção; lavar as mãos após manusear qualquer animal reduz o risco de disseminação de doenças e mesmo de autoinfecção. Mesmo em biotérios convencionais, todas as pessoas que trabalham com animais deverão usar roupas protetoras ao entrar nas instalações.

Em relação ao ambiente de biotérios, alguns odores animais são agressivos para seres humanos. Grande parte desses odores é produzida pela ação bacteriana dos excrementos, porém não se devem usar produtos que os mascare, pois podem ser extremamente nocivos para os animais.

Os odores devem ser controlados por procedimentos rotineiros de limpeza e ventilações adequadas. O mais comum dos contaminantes ambientais é o amoníaco (NH_3), que se forma pela ação das bactérias uréase positiva sobre os excrementos.

A concentração de amônia é influenciada por muitos fatores como: ventilação, UR, número de animais por gaiola, qualidade da cama e alimentação.

PROGRAMAS DE SEGURANÇA E SAÚDE

Toda instituição deverá possuir um programa de segurança e saúde ocupacional. A Universidade de São Paulo (USP) realiza um Programa de Segurança e Saúde por meio do Hospital Universitário (HU), do Serviço de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT) e da Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA), para todos os funcionários, docentes e alunos que trabalham em laboratórios, clínicas, atividades com manuseio de animais, serviços de suporte mecânico etc.

RISCO BIOLÓGICO

O estabelecimento de rotinas criteriosas ou POPs[36] deve ser desenvolvido com base nas normas preconizadas sobre conduta dentro de áreas que abrigam animais, o que auxilia a minimizar os riscos para os seres humanos em áreas de risco biológico.

CUIDADOS BÁSICOS PARA O USO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

1. Todos os aspectos envolvidos no uso de animais de laboratório na experimentação científica devem se encontrar dentro dos padrões dos regulamentos e das prerrogativas da instituição.
2. Espécies apropriadas de animais devem ser selecionadas, reduzindo, assim, o potencial de risco biológico.

3. O pesquisador e/ou o responsável pela experimentação animal deve assegurar que todas as pessoas que tenham contato com animais de laboratório e/ou com materiais de descarte devem ser avisados do risco em potencial, sendo que os procedimentos devem ser criteriosamente organizados em manuais operacionais, e realizar treinamentos para a prática operacional.
4. É essencial que todos os acidentes, incluindo mordida de animais e arranhões ou mesmo cortes em caixas ou outro equipamento, sejam registrados. Quando possível, o pessoal deve ser protegido por imunização com vacinas apropriadas.
5. Roedores de laboratório ou outros animais de pequeno porte que tenham escapado de suas gaiolas devem ser eliminados quando capturados, suas carcaças incineradas e a área deve ser totalmente descontaminada. Em caso de o animal escapar do perímetro da instalação, as autoridades responsáveis devem ser notificadas prontamente.
6. O aparecimento de animais doentes ou mortos inesperadamente deve ser informado para ambos, pesquisador e diretor do serviço de animais. As instruções para execução de trabalhos experimentais com tais animais devem ficar suspensas até que se avalie com clareza o ocorrido. Dependendo da suspeita que se tenha, os animais não devem ser nem mesmo manipulados até que as instruções sejam dadas pelos responsáveis.
7. As necrópsias dos animais infectados com agentes altamente infecciosos devem ser realizadas dentro de cabines de segurança biológica. O material de necrópsia a ser eliminado deve ser acondicionado em sacos plásticos adequados, apropriadamente identificados, inclusive com a simbologia de "risco biológico" e incinerados. A sala de necrópsia deve estar equipada para providenciar refrigeração adequada e lavatório para a higienização das mãos.

Zoonoses

Zoonoses são infecções "transmitidas diretamente de animais para humanos" que podem afetar seriamente os projetos de pesquisa. Apesar da maioria dos agentes infecciosos apresentarem espécie especificidade, pode ocorrer esporadicamente, uma variação na sua virulência e na capacidade de quebrar as barreiras existentes entre as espécies. Então, algumas infecções que não têm habitualmente caráter zoonótico podem afetar pessoas ou animais susceptíveis. As pessoas que estão potencialmente expostas a grandes riscos, são aquelas que sofrem de alguma falha em seu sistema imune e/ou aquelas que estão sob estresse severo ou que possuem doenças clinicamente não aparentes. Numerosos microrganismos patogênicos, como aqueles causadores de tuberculose, brucelose, raiva etc., os quais são normalmente perpetuados por transmissão direta de uma ou mais espécies de animais vertebrados, são também transmissíveis ao homem.

O trabalho envolvendo exposição a microrganismos requer imunização de toda a equipe técnica, caso haja vacina disponível. É recomendável, por exemplo, que a equipe técnica que manuseia cães e gatos, incluindo tratadores, receba vacinação contra a raiva de forma rotineira.

É recomendável a realização de testes sorológicos e bancos de referência para amostras de soro de todas as pessoas em atividade em unidades de animais. Isto é de particular importância quando se manejam primatas e/ou agentes contagiosos para humanos.

Deve-se limitar a atividade de mulheres que estejam amamentando em tarefas relacionadas com animais porque podem ser expostas a agentes teratógenos conhecidos ou potencialmente existentes, por exemplo, *Toxoplasma gondii*, que é um protozoário que parasita a maioria dos animais homeotérmicos, incluindo o homem, o qual é disseminado primeiramente por oocistos encontrados nas fezes de gatos. Estes oocistos esporulam em 2 ou 4 dias, podendo sobreviver por mais de 1 ano[37]. A toxoplasmose humana pode resultar em abortos espontâneos, nascimentos prematuros, natimortos ou com defeitos congênitos[38].

O ciclo de vida deste organismo implica em um número variável de zoonoses indiretas e pode envolver transmissão através de um ou mais de um vertebrado e/ou invertebrado como hospedeiro intermediário antes de afetar o ser humano (ex. teniases, tularemia e estomatite vesicular).

Uma classificação dos agentes e de seus níveis de periculosidade indicados pelo Advisory Committee on Dangerous Pathogens são citados por Smith[19].

Primatas

Embora todos os animais devam ser observados como fontes potenciais de zoonoses, o primata é a espécie que maior risco oferece, pela estreita relação filogenética que possui com o homem.

O maior risco envolvendo o primata e o homem é a ocorrência de doenças virais. Sendo assim, para seu controle, a instituição que os aloja deve possuir serviços veterinários e médicos, tendo a obrigatoriedade de estabelecer procedimentos seguros para um rápido diagnóstico da doença, dentre os quais se incluem: sorologia, isolamento viral, visualização direta usando eletromicroscopia ou imunofluorescência e detecção dos componentes virais, quando necessária a vacinação. Desenvolver um programa de segurança e saúde ocupacional relativo ao manuseio de primatas é o passo mais efetivo para a redução dos riscos de infecção ocupacional, evitando a exposição desnecessária dos tratadores com primatas ou com amostras biológicas dos mesmos.

Alguns critérios para a prevenção da infecção por *Herpes simiae* (B-Vírus) foram desenvolvidos pelo grupo de trabalho em B-Vírus[39-41]. O vírus *Herpes simiae,* encontrado principalmente em espécies de macacas do Velho Mundo (ex. *Macaca mulatta*), é fatal para humanos[42]. Em primatas trazidos diretamente do ambiente selvagem, os cuidados devem ser de detecção de infecções latentes indígenas[43,44]. É importante estabelecer uma quarentena rigorosa e procedimentos de controle de qualidade.

Recomendações para um programa de controle sanitário para primatas

1. Todos os primatas devem ser considerados como portadores em potencial de doenças transmissíveis para o homem.
2. Pias para a higiene das mãos devem estar disponíveis em locais adequados e devem ser usadas por todo o pessoal imediatamente após deixar as instalações de primatas.
3. Pessoas com ferimentos, cortes ou outra laceração não devem entrar em contato com primatas, entretanto, se é inevitável, a lesão deve ser apropriadamente coberta por um curativo antes de iniciar o trabalho e, ao ser retirado, deve ser imediatamente descartado. Os materiais utilizados em ferimentos devem ser tratados como produtos contendo perigo biológico.
4. Todos os cortes, feridas ou punturas por agulhas adquiridas em instalações de primatas ou próximas devem ser informadas às autoridades médicas designadas pela instituição.
5. Quando ocorrer injúria por um animal, deve-se imediatamente imobilizá-lo e examiná-lo, observando se ocorre salivação excessiva e se existem lesões na cavidade oral, o que caracterizam o *herpes simio* (B-Vírus). Os procedimentos para colher amostras do animal para o Herpes vírus B e da pessoa na qual ocorreu a injúria devem ser seguidas. Os resultados dos exames devem ser comunicados às autoridades médicas, detalhando a espécie do primata, o período de tempo que se encontra na colônia e o possível contato com outras espécies.
6. É recomendado o uso de fluxo laminar ou cabines de segurança para conduzir necrópsias em primatas.
7. Pelo risco em contrair hepatite A ao se trabalhar com chimpanzés importados, recomenda-se que os trabalhadores recebam soro globulina hiperimune profilaticamente. Os animais devem ser testados para antígenos contra hepatite humana e, em caso positivo, devem ser mantidos em quarentena estrita.
8. Todo indivíduo que tenha contato com primatas deve ser livre de tuberculose, avaliado por teste intradérmico de tuberculina não menos que uma vez ao ano e exame de raio X de pulmão, quando prescrito pelo médico.

Alergias

A alergia a animais de laboratório (ALA) é uma doença ocupacional significativa para pessoas que trabalham regularmente com as espécies mais comuns de animais de laboratório[45,46]. Essa alergia é uma reação de hipersensibilidade do tipo imediata, que se desenvolve pela exposição da pessoa aos animais de laboratório, por meio do contato com sua pelagem, sua urina, sua saliva, seu soro ou qualquer outro tipo de tecido do animal. Os sintomas típicos variam de leve – sintomas de vias aéreas superiores, como coriza, coceira e/ou corrimento nasal e ocular; reações na pele, como áreas com coceiras, vermelhidão e edema após o contato com os animais, seus tecidos ou excrementos – a severo – ocorrência de respiração com chiado, encurtamento da respiração e sensação de pressão no peito (asma). Pessoas com tais sintomas devem entrar em contato com o médico clínico para estabelecer um possível diagnóstico e tratamento.

Usando ensaios imunoquímicos para alérgenos de proteína urinária de ratos, Swanson[47] mediu a produção individual dos animais e a concentração de alérgenos no ar da sala de animais, na qual a média de ventilação era de 15 trocas do ar/hora. Usando filtros de alta eficiência, observou-se que ratos machos disseminam, aproximadamente, 20 mg/min de alérgenos.

As medidas pelas quais se podem reduzir o grau de exposição aos alérgenos produzidos por animais de laboratório incluem os descritos nos projetos de instalações, normas de higiene, programas educacionais para funcionários que trabalham em áreas identificadas como de alto risco, e ainda medidas preventivas como a instituição de procedimentos operacionais[48,49], e desenvolvimento de Programas de Saúde Ocupacional. Gaiolas com sistemas de filtro nas tampas, microisoladores e gabinetes ventilados se apresentam como uma boa opção para diminuir a exposição do trabalhador às substâncias alergênicas.

DANOS FÍSICOS E PERIGOS QUÍMICOS

A prevenção contra riscos de danos físicos relacionados com o manejo de animais deve ser assegurada pelas normas de biossegurança e incluem os seguintes procedimentos:

a. Todo funcionário deve ser treinado e mantido sob supervisão durante o período de experiência no manejo de espécies com as quais vai trabalhar, sendo

informado dos perigos em particular associados com cada espécie.

b. Os *kits* de primeiros socorros devem estar disponíveis, apropriadamente alojados e os medicamentos identificados. Todos devem estar cientes da localização do *kit*, a qual deve estar evidente e sinalizada para facilitar a visualização por todos que usam a instalação.

c. Danos causados por agentes químicos podem ser evitados por meio de cuidados básicos no manuseio, como o conhecimento de suas propriedades.

d. Líquidos voláteis, usados como anestésicos ou para praticar eutanásia, e outras substâncias tóxicas e voláteis devem ser estocados em locais bem ventilados ou em cabines projetadas para tal propósito.

Substâncias tóxicas ou químicas

Uma variedade de substâncias está em uso regular dentro de unidades de manutenção ou experimentação animal, como detergentes, desinfetantes, ácidos e álcalis que estão acondicionados na sua forma concentrada, o que se torna perigoso para o manuseio de pessoas sem o devido treinamento. Essas substâncias são irritantes ou corrosivas e algumas têm potencial carcinogênico, mutagênico ou teratogênico. Os traumas físicos vão desde irritação nos olhos e na pele por manuseio descuidado até intoxicações por inalação do produto.

Em algumas unidades onde se utilizam anestésicos, deve-se estar atento aos riscos, pois certas drogas são tóxicas ou potencialmente perigosas, a saber:

- Éter: evitar o uso desta substância, pois é potencialmente explosiva quando misturada ao ar;
- Clorofórmio e halotano: podem causar problemas hepáticos;
- Metoxifluorano: pode causar problemas renais;
- Óxido nítrico: possivelmente neurotóxico;
- Ciclopropano: potencialmente explosivo quando misturado com oxigênio ou óxido nítrico;
- Uretano: potencialmente carcinogênico.

DESCARTE DE MATERIAIS

Segundo resolução da ANVISA RDC n. 306/2004, o gerenciamento de resíduos do biotério é de responsabilidade da Instituição, desde o momento da sua geração até o seu destino final.

Todo o material contaminado deve ser descontaminado antes de colocá-lo para descarte. No caso de carcaças e materiais provenientes de salas de animais em experimentação, as normas mínimas para tratamento de seus resíduos estão contidas na Resolução citada, sendo os resíduos produzidos por biotérios enquadrados como Resíduos de Serviço de Saúde (RSS).

a. Descarte de materiais em geral:

Consiste em materiais como papel, plástico, fichas de identificação. Devem ser compactados e incinerados.

b. Cama suja dos animais, incluindo material fecal e restos de ração:

O ideal é acondicionar esse material em sacos plásticos, de forma manual ou por métodos automáticos, como o sistema à vácuo. Os sacos plásticos devem ser etiquetados com sinal de risco biológico, vedados e enviados para incineração ou, então, ser removidos para outro destino definido pela instituição.

c. Carcaças de animais:

A preparação do descarte desse tipo de material deve ser de acordo com o risco oferecido, pois animais contaminados providos do setor de experimentação devem ser previamente autoclavados para posterior descarte (Resolução CONAMA n. 5 de 1993). Primeiramente, as carcaças passam por armazenamento refrigerado, são congeladas e, logo após, acondicionadas em sacos brancos, identificadas como risco biológico e colocadas em recipientes de coleta de lixo hospitalar, com seu destino final designado pela instituição. Em geral, o destino mais frequente é o da incineração, logo após a retirada do animal da instalação.

Deve ser acondicionado duplamente em sacos plásticos, identificado com etiqueta de risco biológico e diferenciado por código de cor, a fim de evitar possíveis erros. A incineração imediata é o melhor método de destruição, mas, se outra via é utilizada pela instituição, então esse material deve ser primeiramente autoclavado, sob temperatura e pressão indicadas para eliminação total daquele agente infeccioso.

d. Material radioativo:

A manipulação de radioisótopos deve ser realizada em bancada lisa, de fácil descontaminação, recoberta com plástico e papel absorvente, sendo mais recomendado as bancadas de aço ou as recobertas com fórmica. Ao término dos procedimentos, utiliza-se um monitor de contaminação para o monitoramento das superfícies.

Os trabalhos devem ser monitorados de acordo com a norma CNENNE3. 01 – "Diretrizes Básicas de Radioproteção" e CNENNE3. 02 – "Serviço de Radioproteção".

Os rejeitos radioativos devem ser segregados de acordo com a natureza física do material e do radionuclídeo presente, o tempo necessário para atingir a eliminação e a norma NE-6.05/CNEN, 1985.

Smith cita que talvez o melhor destino para carcaças contendo esse tipo de material seja a maceração *in situ*, e o material, ao passar pelo macerador, deverá ser

drenado para condicionadores específicos para materiais radioativos. Após o acondicionamento, o destino final desse material deverá ser designado pela instituição. Se a maceração não é possível, a incineração torna-se a principal alternativa, tanto para carcaças quanto para cama de animais ou outro material utilizado, mas deve ser realizado em locais específicos para incineração de materiais radioativos, designados pela instituição e de acordo com a Comissão de Descarte de Materiais. Existem limitações quanto ao uso de incineração para certas susbstâncias como cálcio ou fósforo radioativo, os quais podem ser depositados em cinzas residuais. Nesse caso, o pesquisador deverá ser o responsável pelo procedimento legal do descarte desse animal.

e. Objetos cortantes:

Devem ser acondicionados em recipientes rígidos, etiquetados com o sinal de risco biológico e que possibilitem boa vedação antes de sua retirada da sala de animais, seguido de incineração ou autoclavação imediata, cujo descarte deverá seguir o destino designado pela instituição. As agulhas descartáveis devem ser desprezadas juntamente com a seringa, sendo proibido seu recapeamento. A incineração desse tipo de material obviamente deixará resíduos, como fragmentos de vidros ou pedaços de metais, os quais deverão ser acondicionados apropriadamente e seu destino designado pela instituição.

NÍVEIS DE RISCO ASSOCIADOS COM O USO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Os animais usados em experimentos podem, algumas vezes, ser hospedeiros de organismos infecciosos adquiridos naturalmente e/ou inoculados experimentalmente. Essas infecções podem acarretar um estado de hospedeiro crônico ou persistir de forma latente não infectante, que pode ser reativado periodicamente ou como resultado de determinado estímulo. Se há possibilidade de um agente ser excretado por um animal durante o curso de um experimento e não poder ser excluído, todos os outros animais devem ser contidos em instalações com níveis de segurança compatíveis com o risco[6].

Animais de laboratório podem ser inoculados deliberadamente com alguns dos microrganismos que se encontram em cada um dos quatro grupos de risco ou com materiais viáveis e/ou suspeitos de conter esses microrganismos. Sob tais circunstâncias, o animal deverá ser mantido em alojamento apropriado ao risco que o organismo acarreta, e em todas as situações é de responsabilidade do pesquisador e da instituição determinar o nível de risco inerente à atividade proposta (Quadro 1).

Os critérios para a manutenção de animais infectados naturalmente ou induzidos experimentalmente com organismos de algum dos grupos de risco devem ser diferenciados tanto em escala quanto em grau, mas os princípios básicos para segurança são semelhantes.

Quadro 1. Critérios para classificação de grupos de risco por agentes biológicos

Grupo de risco I – Baixo risco individual e baixo risco para a comunidade
O agente biológico não causa doença em trabalhadores ou em animais saudáveis.
Grupo de risco II – Moderado risco individual e baixo risco para a comunidade
Um agente patogênico que, geralmente, causa doenças em humanos ou em animais mas que, sob circunstâncias normais, não chega a ser um perigo sério para as pessoas que trabalham com animais de laboratório – a comunidade, o gado ou o meio ambiente em geral. A exposição a tal agente raramente causa infecções levando a doenças graves, o tratamento costuma ser eficiente e as medidas preventivas devem ser avaliadas, sendo que o risco de disseminação é limitado.
Grupo de risco III – Risco individual elevado, risco comunitário limitado
Um agente patogênico que geralmente causa sérias doenças em humanos ou animais e pode resultar em consequências econômicas graves, mas que, normalmente, ou não se espalha por contato entre um indivíduo e outro, ou possui medidas de tratamento e prevenção.
Grupo de risco IV – Risco individual e comunitário elevado
O agente patogênico representa uma séria ameaça tanto para o ser humano como para os animais, geralmente sem possibilidade de tratamento e de medidas preventivas, sendo potencialmente perigoso a quem o manipula. Possui alto grau de transmissão entre indivíduos, de um animal para o ser humano ou vice-versa, de forma direta ou indireta, ou mesmo de forma casual. Os critérios para a manutenção de animais infectados naturalmente ou induzidos experimentalmente com organismos de algum dos grupos de risco devem ser diferenciados tanto em escala quanto em grau, mas os princípios básicos para a segurança são semelhantes.

Fonte: NHI; 2000[6].

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA

As recomendações detalhadas a seguir descrevem quatro categorias de práticas, segurança, equipamentos e instalações para experimentos com animais infectados com agentes que causam ou podem causar infecções em humanos ou colocar o ambiente em risco. Essas categorias, designadas como níveis de biossegurança animal 1, níveis de biossegurança animal 2, níveis de biossegurança animal 3 e níveis de biossegurança animal 4, estabelecem os níveis adequados de proteção, sendo as recomendações mínimas para atividades que envolvem animais infectados preconizadas pelo Ministério da Saúde[50].

Biossegurança animal nível 1

O nível de biossegurança animal 1 envolve agentes infecciosos bem caracterizados que, comprovadamente, não causam riscos de doenças em humanos adultos saudáveis e possuem apenas riscos mínimos para técnicos de laboratório e para o meio ambiente.

Procedimentos operacionais padrão

1. O diretor do biotério deve estabelecer critérios para definir os procedimentos e os protocolos a serem adotados. O projeto das instalações tem de ser submetido a uma análise prévia com equipe técnica especializada (engenheiros, arquitetos, membros de comissão de biossegurança, bem como a direção da instituição).
2. Somente as pessoas necessárias à execução do trabalho terão autorização para entrar nas dependências. Antes de entrar, elas devem ser avisadas do potencial de risco a que estão sujeitas e devem ser instruídas a respeito de como proceder para garantir sua segurança.
3. Deve ser estabelecido um programa de supervisão médica.
4. Um manual de segurança deve ser preparado e adotado e é necessário que se leiam e sigam as instruções. Os procedimentos em geral devem ser padronizados para tentar minimizar a produção de aerossóis (por exemplo, higienização das gaiolas).
5. Comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos e estocar alimentos de uso humano só deve ser realizado em áreas previamente designadas e nunca em áreas de manutenção de animais ou salas de procedimentos.
6. As superfícies de trabalho precisam ser descontaminadas sempre antes e depois do uso ou após a ocorrência de respingos de qualquer tipo de material viável.
7. Todos os materiais de descarte provenientes de sala de animais devem ser transportados em recipientes de contenção à prova de vazamentos, para serem descartados de forma adequada e de acordo com as normas institucionais, sendo a incineração recomendada.
8. O pessoal deve ser instruído quanto à necessidade de lavar as mãos após manusear animais, depois da retirada das luvas e antes de deixar a instalação de animais.
9. O símbolo específico de risco biológico tem de ser colocado na entrada das salas de animais, em local visível, independentemente do tipo de agente infeccioso que aloja. A sinalização de risco biológico deve identificar o agente infeccioso em uso, listar o nome e o telefone das pessoas responsáveis e indicar os procedimentos especiais para a entrada na sala de animais.
10. Um programa de controle de insetos e roedores precisa ser estabelecido.

Práticas especiais

Nenhuma.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

1. É recomendado o uso de aventais, macacões e/ou uniformes dentro das instalações. Os aventais podem permanecer na sala de animais; nenhum tipo de uniforme pode ser usado fora das instalações de animais.
2. Pessoas que tenham contato com primatas têm de ser esclarecidas quanto ao risco de infecções em razão da exposição das membranas mucosas da boca, dos olhos e do nariz. O procedimento correto é o uso de protetores faciais que protegem toda a face ou, então, de protetores para os olhos e máscara para a boca e as narinas.

Instalações (barreiras secundárias)

1. A instalação animal deve estar separada de outras áreas de trabalho que permaneçam abertas para o trânsito irrestrito de pessoas.
2. As portas externas devem ser de fechamento automático e as das salas de animais devem se abrir para o lado de dentro, com fechamento automático, e ser mantidas sempre fechadas.
3. As instalações terão de ser projetadas e construídas de forma que facilite os procedimentos de higienização. As superfícies internas (paredes, pisos e tetos) devem ser de material resistente à água.
4. Equipamentos que necessitem de instalação interna, como luminárias, ductos de ar e outros, devem ser instalados de forma a minimizar o máximo possível áreas de superfície horizontal.
5. Não se recomendam janelas, mas, se existirem, devem ser de material resistente a quebras, devendo ser vedadas.
6. No piso, deve haver boa drenagem, com caixa sifonada sempre cheia de água e/ou com desinfetante apropriado.
7. A ventilação deve ser provida de acordo com o Guia para Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório, última edição, segundo o qual nenhuma recirculação de ar exaurido deve ocorrer, e recomenda-se que as salas de animais tenham pressão negativa quando comparadas com instalações adjuntas.

Biossegurança animal nível 2

O nível de biossegurança animal 2 envolve agentes infecciosos bem caracterizados que ocasionam riscos de doenças em humanos adultos. Os riscos existentes são de contaminação pela ingestão de agentes infecciosos ou pela exposição das membranas mucosas ou mesmo pela pele.

Procedimentos operacionais padrão

1. Aliados aos procedimentos operacionais padrão, os protocolos para situações de emergência devem ser estabelecidos pelos responsáveis do biotério e ser aprovados pela Comissão Interna de Biossegurança.
2. O acesso à sala de animais deve ser autorizado somente às pessoas necessárias à execução do trabalho, e a quem seja permitida a entrada deve-se informar sobre o risco existente.
3. Deve-se estabelecer um programa de supervisão médica, realizar imunizações ou testes para os agentes manuseados ou potencialmente presentes (por exemplo, vacina contra hepatite B, teste de tuberculina) e, quando necessário, implantar um sistema de levantamento sorológico.
4. Um manual de biossegurança deve ser adotado e os funcionários têm de ser conscientizados, por meio de sua leitura, e treinados para as devidas práticas e procedimentos.
5. Comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos e estocar alimentos de uso humano só devem ser realizados em áreas previamente designadas e nunca em áreas de manutenção de animais ou salas de procedimentos.
6. Todos os procedimentos têm de ser estabelecidos visando produzir o mínimo possível de aerossóis.
7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho, em uma sala, devem ser rotineiramente descontaminados com desinfetantes apropriados após trabalhar com agentes infecciosos, e especialmente após a ocorrência de respingos ou qualquer outro tipo de contaminação.
8. Todas as amostras de agentes infecciosos, ao serem coletadas, precisam ser bem acondicionadas, seladas, transportadas e processadas para prevenir a transmissão do(s) agente(s). Todos os resíduos provenientes de salas de animais (incluindo tecidos de animais, carcaças, cama contaminada, sobras de ração não ingerida e outros refugos) devem ser transportados em recipientes à prova de vazamentos, para ser descartados segundo as normas da instituição. As superfícies externas desse invólucro de descarte devem ser desinfetadas antes do manuseio do material e a autoclavagem do conteúdo têm de ser realizada antes da incineração.
9. A supervisão e o treinamento para um manejo seguro de materiais cortantes devem ser instituídos como: a) as agulhas e seringas ou outro instrumento cortante só devem ser usados dentro da instalação de animais quando não houver alternativa; b) as seringas devem portar protetores de agulhas ou, se possível, utilizar sistemas de coleta a vácuo (por exemplo, vacutainer), devendo existir um coletor específico para descarte de materiais perfurantes e cortantes.
10. O funcionário deverá sempre lavar as mãos após o manuseio com animais, depois da retirada das luvas e antes de entrar nas salas de animais.
11. O símbolo de risco biológico tem de ser colocado na entrada da sala de animais, devendo identificar o agente infeccioso em uso, listar o nome e o telefone das pessoas responsáveis e indicar os procedimentos especiais (por exemplo, a necessidade de imunização prévia ou o uso de máscaras de proteção) para a entrada de animais nessa sala.
12. Um programa de controle de insetos e roedores deve ser instituído.

Práticas especiais

1. O pessoal que manuseia animais de laboratório ou o pessoal de apoio deverá receber treinamento apropriado, principalmente esclarecimentos sobre possíveis riscos que o trabalho envolve, precauções necessárias para prevenir exposições e procedimentos para avaliação dessa exposição, se ocorrer. O pessoal terá de receber reciclagem anual ou treinamento adicional quando ocorrer mudança nos procedimentos. Tais reciclagens deverão ser registradas e mantidas em arquivo. Em geral, pessoas com algum comprometimento, que possam apresentar um maior risco em adquirir infecções, ou que não trabalham com riscos usualmente só terão permissão para entrar em salas de animais quando o estabelecimento de procedimentos especiais puder eliminar esses riscos extras.
2. Somente animais que vão ser usados em experimentos devem ser permitidos nas salas.
3. Todo o equipamento deve ser apropriadamente descontaminado antes de ser removidos da sala.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

1. Macacões, uniformes ou aventais devem ser usados enquanto o funcionário se encontra dentro da sala de animais e têm de ser removidos antes de sair. As luvas devem ser usadas quando se manuseiam animais infectados ou quando a superfície cutânea, inevitavelmente, possa entrar em contato com materiais infectados.

2. Equipamentos de proteção pessoal, como protetores de olhos/face e máscaras com filtros devem ser usados por todas as pessoas que necessitam entrar em instalações que alojam primatas.
3. Cabines de segurança biológica e/ou equipamentos de proteção pessoal (máscaras faciais ou com filtros) devem ser usadas onde os procedimentos exigem essa conduta, ou seja, onde existe um grande potencial de criação de aerossóis. Essas exigências incluem necrópsia de animais infectados, coleta de tecidos ou fluidos de animais infectados ou inoculação intranasal em animais.
4. Quando houver grande risco, os animais devem ser alojados em equipamentos com barreira local, como microisoladores.

Instalações (barreiras secundárias)

1. A instalação dos animais deve ser separada de áreas que tenham contato com outras onde há trânsito irrestrito de pessoas.
2. O acesso das pessoas deve ser limitado por portas com travamento de segurança e as portas externas devem ter fechamento e travamento automático. Quanto às portas internas, devem abrir para dentro e ter fechamento automático, sendo mantidas fechadas durante o transcorrer do experimento.
3. A instalação de animais têm de ser projetada e construída para facilitar a limpeza e sua manutenção. Superfícies internas (paredes, pisos e tetos) precisam ser de material resistente à água.
4. Equipamentos de instalação interna, como luminárias, ductos de ar e outros devem ser instalados de forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
5. Não se recomendam janelas; se existirem, deve ser de material resistente, devendo ser vedadas.
6. No piso, deve haver boa drenagem, com caixa sifonada sempre cheia de água e/ou com desinfetante apropriado.
7. Quando à ventilação, a exaustão deve ser descarregada para o exterior sem recirculação de ar, mesmo para outras salas. A direção do fluxo de ar deve ser para o interior das salas de animais, devendo manter a pressão negativa ao comparar com áreas adjacentes. A ventilação deve ser provida de acordo com o Guia para Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório, última edição.
8. As gaiolas podem ser lavadas manualmente ou por lavadoras automáticas apropriadas. As lavadoras de gaiolas devem possuir um tempo para enxágue com água quente que atinja pelo menos 80°C.
9. A descontaminação de material infeccioso deve ser feita por autoclavação.
10. As mãos têm de ser lavadas em pias dentro da sala de animais, na qual os animais infectados estão alojados.
11. A iluminação deve ser adequada para facilitar as atividades, evitando reflexos que possam impedir a visão.

Biossegurança animal nível 3

A categoria de biossegurança animal nível 3 envolve os procedimentos adequados para trabalhar com animais infectados por microrganismos que apresentam potencial de transmissão aerógena e podem causar doenças potencialmente letais.

Procedimentos operacionais padrão

1. Aliados aos procedimentos operacionais padrão, os protocolos para situações de emergência devem ser estabelecidos pelos responsáveis do biotério e ser aprovados pela Comissão Institucional de Biossegurança.
2. O diretor do biotério limitará o acesso às salas de animais para o menor número possível de indivíduos. O pessoal que necessita entrar para executar os procedimentos do experimento deve ser avisado sobre o potencial de risco.
3. Um programa de supervisão médica deve ser instituído. Todo o pessoal deverá receber imunização apropriada ou, então, terão de ser realizados testes para verificação da contaminação pelos agentes que foram manuseados ou estejam potencialmente presentes (por exemplo, vacina contra hepatite B, teste de tuberculina intradérmica). Quando apropriado, um levantamento sorológico deve ser realizado e, para pessoas com maior risco em adquirir infecções ou para quem uma infecção possa trazer sérias consequências, não deve ser permitida a entrada nas instalações de animais, a menos que com eventuais procedimentos especiais adotados se possa eliminar o risco extra. Um programa sobre saúde física ocupacional tem de ser estabelecido.
4. Um manual de biossegurança deve ser preparado e adotado. O pessoal tem de ser avisado sobre os riscos existentes e é obrigatório ler e seguir todas as instruções, assim como as práticas e os procedimentos.
5. Comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos e estocar comida de uso humano deve ser proibido em áreas com animais ou mesmo áreas de procedimentos, sendo permitido somente em áreas previamente designadas.
6. Todos os procedimentos têm de ser cuidadosamente realizados para minimizar a criação de aerossóis ou outras formas de contaminação.

7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho têm de ser rotineiramente descontaminados com desinfetantes comprovadamente eficientes, logo após trabalhar com um agente infeccioso e, especialmente se ocorrerem respingos, derramamentos ou outro tipo de contaminação dessa superfície por material infeccioso.
8. Todos os materiais de descarte provenientes das salas de animais (incluindo tecidos de animais, carcaças, cama contaminada, ração não ingerida, agulhas e outros tipos de descarte animal) devem ser acondicionados em recipientes à prova de vazamentos, transportados para fora da sala de animais, obedecendo as normas locais ou institucionais. A superfície externa desse recipiente tem de ser desinfetada antes do transporte de material, sendo recomendadas a autoclavação e a incineração.
9. A supervisão e o treinamento para um manejo seguro de agulhas devem ser instituídos como: a) as agulhas e seringas ou outro instrumento cortante só devem ser usados dentro da instalação de animais quando não houver alternativa; b) as seringas devem portar protetores de agulhas ou, se possível, utilizar sistemas de coleta a vácuo (por exemplo, "vacutainer"), devendo existir um coletor específico para descarte de materiais perfurantes e cortantes.
10. As mãos devem ser lavadas após manusear os animais, ao remover as luvas, para só então sair da instalação.
11. O símbolo de risco biológico tem de ser colocado na entrada das salas de animais, em local visível, devendo identificar o agente infeccioso em uso, listar o nome e o telefone das pessoas responsáveis, e indicar os procedimentos especiais para a entrada nessa sala de animais (por exemplo, a necessidade de imunização prévia ou o uso de máscaras com filtros protetores).
12. Todas as amostras coletadas devem ser acondicionadas adequadamente, identificadas, transportadas e processadas de maneira que previna a transmissão de agentes.
13. O pessoal que maneja os animais ou o pessoal de apoio deve receber treinamento apropriado sobre os riscos potencialmente associados com o trabalho que está desenvolvendo, para tomar as precauções necessárias para prevenir exposições e avaliar uma eventual exposição.
14. Um programa de controle de insetos e roedores deve ser instituído.

Práticas especiais

1. As gaiolas devem ser autoclavadas ou apropriadamente descontaminadas antes que a cama seja removida, antes de serem limpas e lavadas. Os equipamentos têm de ser descontaminados segundo as normas técnicas, antes de ser empacotados para transporte ou removidos da instalação para reparo ou manutenção.
2. Os procedimentos concernentes à ocorrência de respingos ou gotejamento de material infeccioso devem estar dentro das normas de segurança. Somente pessoas treinadas e equipadas para trabalhar com material infeccioso podem fazer a limpeza desse tipo de contaminação. Esse ou outros tipos de acidentes que resultam em exposição a materiais infecciosos devem ser informados imediatamente à direção do biotério. Uma avaliação médica com o devido tratamento tem de ser providenciada e todos os registros da ocorrência devem ser mantidos em arquivo.
3. Todos os materiais de descarte das salas de animais devem ser autoclavados antes da incineração ou outro tratamento terminal apropriado.
4. Os materiais não relacionados com o experimento em questão (por exemplo, plantas, animais) não devem ser permitidos dentro da sala.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

1. Os uniformes considerados adequados são macacões ou aventais cirúrgicos transpassados, devendo-se evitar aventais com botões frontais. Esses macacões ou aventais devem ser usados sobre os uniformes e removidos só depois de o funcionário deixar a sala de animais. Antes de este sair, deve lavar as mãos e, ao remover os uniformes, acondicioná-los de forma adequada e encaminhá-los para descontaminação antes de ser transportados para a lavanderia.
2. O uso de equipamento de proteção pessoal está relacionado com o grau de riscos potenciais: a) equipamentos de proteção pessoal devem ser usados para todas as atividades que envolvem a manipulação de material infeccioso ou animais infectados; b) deve-se utilizar luvas quando se manuseiam animais infectados, que devem ser removidas assepticamente e autoclavadas junto com outros resíduos das salas de animais antes de transportados; c) máscaras devem ser usadas por todo o pessoal que entrar nas salas de animais; d) botinas, sapatilhas ou outro tipo de proteção para os pés devem estar disponíveis e serem usados quando indicado.
3. O risco de contaminações pela produção de aerossóis por animais infectados ou mesmo por meio da cama de maravalha utilizada por esses animais pode ser reduzido se os animais forem alojados em gaiolas com barreiras locais, como gaiolas com filtro-tampa ou microisoladores, ou cabines ventiladas, desde que o fluxo de ar seja ventilado dentro de

ambientes fechados (por exemplo, cabines de fluxo laminar) ou outro tipo de barreira primária.
4. As cabines de segurança biológica e outros equipamentos físicos devem ser usados quando as práticas operacionais conduzirem à produção de aerossóis. Nesse item, inclui-se a realização de necrópsias de animais infectados, a coleta de tecidos ou fluidos infectados e a inoculação intranasal em animais.

Instalações (barreiras secundárias)

1. A instalação dos animais deve ser separada das áreas abertas para o trânsito irrestrito de pessoas.
2. O acesso às instalações é limitado por portas com fechamento e travamento automático. A porta externa deve ser controlada com fechamento por chave, cartão magnético ou leitor eletrônico e a entrada para a sala de animais deve ser do tipo dupla porta, a qual inclui uma sala de troca e chuveiros. Outro acesso adicional do tipo dupla porta (*air-lock*) ou autoclave de dupla porta deve ser providenciada para o transporte dos suprimentos e dos resíduos para dentro e para fora das instalações. As portas das salas de animais devem se abrir para dentro e ter fechamento automático.
3. A instalação de animais deve ser projetada e construída para manter os procedimentos de limpeza. As superfícies internas (paredes, pisos e tetos) devem ser de material resistente à água e qualquer tipo de rachadura na superfície de pisos, paredes ou teto têm de ser selada, bem como as aberturas de ductos. Espaços entre portas e caixilho deverão ser selados para facilitar a descontaminação.
4. Pias para lavar as mãos de forma livre ou automaticamente operadas devem ser providas para cada sala de animal próximo à porta de saída. A caixa sifonada da pia deve ser preenchida com desinfetante apropriado após cada uso.
5. Equipamentos de instalação interna, como luminárias, ductos de ar e outros tipos de instalações para equipamentos, devem ser instalados de forma a minimizar áreas de superfície horizontal.
6. Não se recomendam janelas; se existirem, deve ser de material resistente à quebra, devendo ser vedadas.
7. No piso, deve haver boa drenagem, com a caixa sifonada sempre cheia de água e/ou desinfetante apropriado.
8. A ventilação tem de ser provida de acordo com os critérios adotados pelo Guia de Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório, em sua última edição. O sistema de ventilação deve realizar a exaustão do ar por meio de ductos, criando um fluxo direcionado de ar, que arrasta o ar de dentro da área de animais, considerada "limpa", em direção às áreas "contaminadas". O ar exaurido não deve ser recirculado para outra área qualquer do prédio. A filtração e outros tratamentos de exaustão do ar podem não ser necessários, mas tal decisão deve ser baseada nos requisitos internos, em condições específicas de manipulação do agente e nas condições de uso. O ar exaurido deve ser disperso das áreas internas para externas e passar por filtros HEPA. Dentro das áreas de animais, o próprio pessoal que trabalha na área terá de verificar o fluxo em que o ar está direcionado. Ao instalar um sistema de controle de ventilação para prevenir problemas com pressão positiva nos espaços ocupados por animais, o ideal é instalar sistemas automáticos de pressão atmosférica com alarmes audíveis para sinalizar aos responsáveis a falha que está ocorrendo no sistema.
9. As gaiolas têm de ser lavadas em máquinas automáticas apropriadas, que tenham um tempo de enxágue em temperatura que alcance no mínimo 80°C.
10. É necessário (conveniente) que se tenha uma autoclave para as salas de animais em que existam potencial de risco biológico, a qual deverá ser utilizada para descontaminar resíduos infectantes antes de serem transportados para outras áreas da instalação.
11. A iluminação tem de ser adequada para que se realizem todas as atividades, evitando reflexos que dificultem ou impeçam a visualização das tarefas.
12. As instalações de nível 3 devem ter seu projeto e procedimentos operacionais bem documentados. A instalação deve ser testada para verificação dos parâmetros do projeto e sua operacionalização antes de dar início a seu funcionamento. As instalações devem ser reverificadas pelo menos anualmente, e seus procedimentos têm de ser modificados se a experiência demonstrar alguma falha.
13. Algumas proteções extras (por exemplo, chuveiros pessoais, filtros HEPA para exaustão do ar, equipamento de contenção para algumas tarefas e descontaminação dos efluentes) devem ser consideradas, se recomendadas, e determinadas pelo risco existente.

Biossegurança animal nível 4

As instalações para animais em nível de biossegurança 4 são adequadas para microrganismos que apresentam alto risco de ocasionar doenças letais, causar transmissão por aerossóis ou relacionadas com agentes com risco de transmissão desconhecido.

Procedimentos operacionais padrão

1. Aliados à monitoração e à supervisão, procedimentos e protocolos para situações de emergência, bem

como procedimentos especiais, devem ser aprovados pela instituição e pelo Comitê de Biossegurança.

2. A direção do biotério limitará o acesso às salas de animais ao menor número possível de indivíduos. As pessoas que deverão entrar nas salas para desenvolver os propósitos requeridos pelo seu trabalho têm de ser avisadas do potencial de risco a que estão expostas.
3. Um programa de supervisão médica deve ser instituído para todas as pessoas que tenham permissão para entrar em salas de nível 4. Dependendo do agente deverão ser tomadas medidas profiláticas, como o de imunização para o agente em questão, e mesmo uma análise sorológica do funcionário para avaliação de antecedentes como exposição a agentes infecciosos e qual a profilaxia existente. Em geral, as pessoas com elevado risco de infecções, ou para quem essas infecções têm sérias consequências, não devem ter sua entrada permitida na instalação de animais, a menos que procedimentos operacionais específicos sejam desenvolvidos e, que com essa prática, eliminem-se os riscos extras. O programa de supervisão médica ainda deve incluir a avaliação sobre saúde ocupacional e física dos funcionários.
4. Um manual de biossegurança específico para o local de trabalho deve ser elaborado e adotado. As pessoas precisam ser avisadas dos riscos potenciais do trabalho que desenvolvem. É obrigatório ler e seguir as instruções sobre os procedimentos e as práticas contidas no manual.
5. Comer, beber, fumar, manusear lentes de contato, aplicar cosméticos ou ainda estocar alimentos para consumo humano são atos que só devem ser realizados em áreas previamente designadas e nunca em áreas de manutenção de animais ou salas de procedimentos.
6. Todos os procedimentos operacionais têm de ser cuidadosamente elaborados para diminuir ao máximo a produção de aerossóis.
7. Os equipamentos e as superfícies de trabalho em uma sala devem ser rotineiramente descontaminados com desinfetantes apropriados depois de se ter trabalhado com agentes infecciosos, e especialmente após a ocorrência de respingos, derramamentos ou outro tipo de contaminação por meio de material infectado.
8. Deve existir um procedimento específico e adequado para a descontaminação de respingos e somente pessoas treinadas e equipadas podem realizá-lo. Respingos e acidentes que resultam em exposição a materiais infectados devem ser imediatamente informados ao diretor do biotério. Uma avaliação médica com acompanhamento e tratamento apropriados para o caso tem de ser estabelecida e todos os registros devem ser arquivados.
9. Todos os resíduos (incluindo tecidos de animais, carcaças e cama contaminada), outros materiais para descarte e roupas a serem lavadas devem ser esterilizados em uma autoclave de dupla porta localizada em áreas de barreiras secundárias e incinerados.
10. A supervisão e o treinamento para um manejo seguro de agulhas devem ser instituídos como: a) as agulhas, seringas ou outro instrumento cortante só devem ser usados dentro da instalação de animais quando não houver alternativa; b) as seringas devem portar protetores de agulhas ou, se possível, utilizar sistemas de coleta à vácuo (por exemplo, "vacutainer"), devendo existir um coletor específico para descarte de materiais perfurantes e cortantes.
11. O símbolo de biossegurança deve ser colocado na entrada das salas de animais, em local visível, a fim de identificar o agente infeccioso em uso, listar o nome e o telefone das pessoas responsáveis, e indicar os requerimentos especiais para a entrada nessa sala de animais (por exemplo, a necessidade de imunização prévia ou de máscaras com filtros protetores).
12. O pessoal que maneja os animais ou o pessoal de apoio deve receber treinamento apropriado sobre os riscos em potencial associados com o trabalho que está desenvolvendo, sobre as precauções necessárias para prevenir tais exposições e uma avaliação correta quando ocorrer uma eventual exposição. Os funcionários têm de receber cursos de reciclagem anualmente, ou treinamentos adicionais quando necessário para determinados procedimentos ou alterações nos procedimentos correntes. Todos os treinamentos devem ser registrados e mantidos em arquivo.
13. As gaiolas devem ser autoclavadas ou devidamente descontaminadas antes de a cama dos animais ser removida e depois que forem limpas e lavadas. Equipamentos e superfícies de trabalho têm de ser rotineiramente descontaminados com desinfetante apropriado depois do trabalho com materiais infectados e, sobretudo depois de respingos, derramamentos ou outro tipo de contaminação por material infectado. Os equipamentos devem ser descontaminados de acordo com o regulamento da instituição antes de ser removido para reparo ou manutenção.
14. Pessoas designadas para trabalhar com animais infectados devem sempre trabalhar aos pares. Com base nas avaliações de risco, devem-se usar gaiolas de contenção, trabalhar com o animal anestesiado ou adotar outros procedimentos para reduzir possíveis exposições.

15. Os materiais que não estão relacionados ao experimento (plantas, animais) não devem ser permitidos dentro das instalações.

Práticas especiais

1. Medidas rigorosas quanto à segurança física das instalações devem ser tomadas em relação ao nível de biossegurança 4, como o patrulhamento de áreas próximas; vigilância durante as 24 horas com monitoramento da entrada e saída do biotério, com o uso de cartões magnéticos ou códigos digitais. O funcionário deverá estar sempre portando seu cartão de identificação funcional.
2. As pessoas que têm permissão para entrar no biotério deverão fazê-lo após passar por chuveiro e trocar sua roupa, assim, sempre que algum funcionário tiver de sair da sala de animais, deverá tomar um novo banho e vestir outra roupa para poder entrar novamente.
3. Uniforme completo, incluindo roupas íntimas, sapatos e luvas, deverá ser usado pelos funcionários para entrar nas salas de animais. Ao sair, eles deverão remover a roupa dentro da sala de troca, e, antes de entrar na área, deverão passar por chuveiros. A roupa terá de ser esterilizada em autoclave, antes de ser enviada à lavanderia.
4. A troca completa de roupa e o banho após removê-la são sempre obrigatórios em ambientes de nível 4.
5. A introdução de suprimentos e materiais no biotério deve ser por via autoclave de dupla porta ou por câmara de fumigação. Somente após a confirmação de que a porta externa está travada é que os funcionários da área "limpa" abrirão a porta interna para fazer a retirada dos materiais. As portas da autoclave e da câmara de fumigação funcionam com intertravamento.
6. Para a correta informação sobre ocorrência de acidentes e superexposição, bem como para levantamentos médicos sobre as condições de trabalho associadas com o potencial de infecções, deverá existir um programa de assistência médica, incluindo quarentena, isolamento e cuidados médicos de pessoas potencial ou sabidamente portadoras de doença associada ao trabalho.
7. As amostras terão de ser coletadas e analisadas a intervalos predeterminados e os resultados comunicados à direção da Instituição.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

1. Animais de laboratório infectados com agentes classificados no nível de biossegurança 4 devem ser alojados em cabines de segurança biológica de clas-

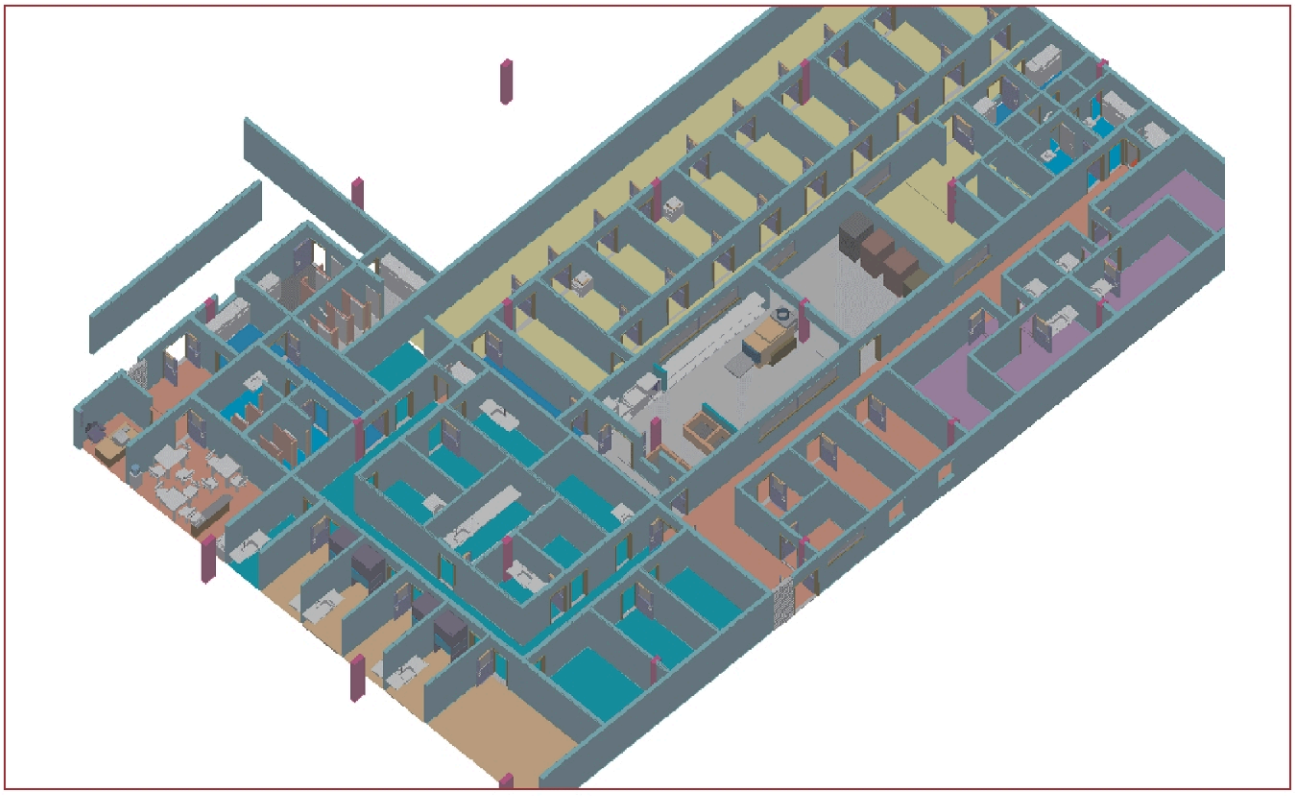


Figura 1. Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) e do Instituto de Química (IQ) da Universidade de São Paulo (USP).

se III ou em salas experimentais nível 4. Para todas as pessoas, é necessário o uso de roupas ventiladas com pressão positiva. Animais infectados devem ser alojados em sistemas de contenção parcial (como gaiolas abertas, mas colocadas em cabines fechadas ventiladas; instalações comuns, mas com o animal alojado em gaiola coberta por tampas-filtro e aberta somente quando em fluxo laminar; ou outro sistema de contenção primário equivalente).

2. O emprego de materiais descartáveis que não requerem limpeza, incluindo a gaiola dos animais, deve ser considerado, mas até mesmo esses materiais devem ser autoclavados na saída da instalação e, então, incinerados.

Instalações (barreiras secundárias)

Os critérios para projetos de instalações para alojar animais do grupo de risco 4 são semelhantes aos descritos para animais do grupo de risco 3, mas devem ser aliados ao uso de cabines de proteção.

A Figura 1 mostra o *layout* do Biotério de Produção e Experimentação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) e do Instituto de Química (IQ) da Universidade de São Paulo (USP), que possui área física aproximada de 860 m^2. O biotério possui um sistema de ar condicionado central com sistema de gerador de energia elétrica para atender às áreas distintas. Na área de experimentação, as salas de biossegurança possuem pressão negativa em relação ao corredor, exaustão do ar com filtros seletivos HEPA, autoclave de dupla porta, fluxo laminar e microisoladores. Na área destinada à produção de animais, contamos com o estabelecimento de fluxo operacional de pessoas e animais por meio de sistemas de barreiras com corredores "limpo/sujo", incluindo autoclave de dupla porta.

NORMAS PARA TRABALHO EM CONTENÇÃO COM ANIMAIS GENETICAMENTE MODIFICADOS

O Quadro 2 apresenta de forma resumida as Normas para Trabalho em Contenção com Animais Geneticamente Modificados (AnGM), contidas em sua íntegra na resolução normativa n. 2 da CTNBio.

As recomendações do art. 7 da normativa citada descrevem quatro categorias de práticas, segurança, equipamentos e instalações para trabalhos com AnGMs, recomendações comparáveis aos critérios de biossegurança para o trabalho com agentes infecciosos (Quadro 3).

Quadro 2. Normas para trabalho em contenção com AnGM.

Níveis de biossegurança	Níveis adequados de AnGM	Especificações técnicas
NB-A1	AnGm1	■ Acesso restrito ■ Instalações projetadas para facilitar a limpeza e a desinfecção ■ Barreiras físicas ■ Salas específicas para cada espécie animal ■ Material contaminado deve ser descontaminado, podendo ocorrer fora das instalações
NB-A2	AnGm1 e AnGm2	■ As características descritas para NB-A1 ■ Acesso somente com autorização e qualificação ■ Antessala entre áreas com dupla porta e intertravamento ■ Luz de emergência com geradores ■ Controle sanitário e genético dos animais ■ Cabine de segurança biológica classe I e II ■ Seguir normas de Boas Práticas Laboratoriais (BPL) ■ Obrigatório o uso de EPI
NB-A3	AnGm1, AnGm2 e AnGm3	■ As características descritas para NB-A2 ■ As instalações deverão possuir 4 áreas distintas: antessala, sala de materiais, salas de produção e salas de experimentação ■ Fluxo de ar deverá ocorrer no sentido da antessala, sala de materiais, salas de produção e salas de experimentação ■ Entrada e saída do ar deverão ter filtros HEPA ■ Salas de experimentação deverão conter pressão de ar negativa em relação à sala anterior ■ Sistema automático de pressão atmosférica ■ Animais alojados em microisoladores jamais deverão deixar as salas apropriadas ■ Nenhum material biológico capaz de propagar o agente infeccioso poderá deixar o biotério antes de eliminada a viabilidade do agente infeccioso

Continua

Quadro 2. Normas para trabalho em contenção com AnGM *(continuação)*.

Níveis de biossegurança	Níveis adequados de AnGM	Especificações técnicas
NB-A3	AnGm1, AnGm2 e AnGm3	■ Todo líquido efluente deverá ser descontaminado antes de liberado no sistema de escoamento ■ Pias, chuveiros e ralos devem estar presentes somente na antessala e na sala de materiais; não devem existir nas salas de experimentação. Acionamento das torneiras feito sem o uso das mãos. ■ O transporte de qualquer material biológico deverá ser seguro e aprovado pela CIBio ■ Autoclave de dupla porta ■ Os animais deverão ser incinerados antes do descarte ■ O usuário deverá utilizar vestimenta apropriada, que deverá ser autoclavada no próprio biotério ■ Procedimento de emergência deverá ser estipulado pela CIBio ■ A CIBio deverá propor sistema de vigilância e monitoramento dos usuários para detecção de possíveis contaminações pelos agentes em uso
NB-A4	AnGm1, AnGm2, AnGm3 e AnGm4	■ Todas as condições exigidas para NB3 ■ Construção isolada e patrulhamento ininterrupto 24 horas por dia, a cargo da instituição ■ O acesso é absolutamente restrito a pessoal com comprovada experiência, certificada e aprovada pela CTNBio, devendo ser controlado por sistema que permita a identificação de cada usuário ■ Deverá possuir 6 áreas distintas: antessala, sala de troca de vestimenta, sala de materiais, sala de animais, sala de experimentação e sala de necrópsia com incinerador ■ Não deverão existir pias, chuveiros ou qualquer ralo na sala de animais e de experimentação ■ Todas as salas deverão ter pressão negativa em relação à sala anterior, sistema de controle automático de pressão do ar e acionamento automático de alarme ■ Sistema de filtração dupla na exaustão do ar e sistema validado por empresas com experiência comprovada
NB-A4	AnGm1, AnGm2, AnGm3 e AnGm4	■ Sistema de esgotamento sanitário deverá ser independente, com sistema de descontaminação antes do descarte ■ Todo usuário deverá obedecer às normas de troca de vestimenta antes de entrar no biotério e, obrigatoriamente, tomar banho antes de deixar o local ■ Nas áreas em que se encontram os animais ou na sala de experimentação e na sala de necropsia, deverá haver contenção de 100% do ar circulante NB-A4, em relação ao usuário ■ Os animais deverão ser incinerados antes do descarte ■ Nenhum material biológico capaz de propagar o agente infeccioso poderá deixar o biotério. Qualquer experimento utilizando material biológico deverá ser realizado dentro da sala de experimentação ■ O vigia responsável pelo patrulhamento da área de acesso ao biotério deverá estar apto a acionar o esquema de emergência, em caso de acidente ■ Cabine de segurança biológica classe II ou III, juntamente com roupas de proteção pessoal

Quadro 3. Art. 7 – Resolução Normativa n. 2 da CTNBio

Grupo de risco I – Baixo risco individual e baixo risco para a comunidade
O OGM que contém sequências de ADN/ARN de organismo doador e receptor que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
Grupo de risco II – Moderado risco individual e baixo risco para a comunidade
O OGM que contém sequências de ADN/ARN de organismo doador ou receptor com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
Grupo de risco III – Alto risco individual e risco moderado para a coletividade
O OGM que contém sequências de ADN/ARN de organismo doador ou receptor, com alto risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha baixo ou moderado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
Grupo de risco IV – Alto risco individual e alto risco para a coletividade
O OGM que contém sequências de ADN/ARN de organismo doador ou receptor com alto risco de agravo à saúde humana e animal, que tenha elevado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sarazá M, Sanchez C. Normas de seguridad biológica en infecciones experimentales con animales. Animales de experimentación. 2000;5(4):12-6.
2. Fleming DO. Laboratory safety practices. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D, editors. Laboratory safety. Principles and pratices. Washington: ASM Press; 1995.
3. Canadian Council on Animal Care (CCAC). Transgenic animals, animal welfare and ethics. Disponível em: http://www.ccac.ca/english/transusp.htm.
4. Gordon JW, Ruddle FH. Integration and stable germ line transformation of genes injected into mouse pornuclei. Science. 1981; 214:1244-6.
5. National Research Council (NCR). Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: NCR – National Academy Press, 1996.
6. National Institute of Health (NIH) Policy Manual – 3040-2 – Animal Care And Use In The Intramural Program – Issuing Office: OACU, 2000. 496-5424-1999. Disponível em: http://www.nih.gov/.
7. Alexandre SR. Segurança e higiene do trabalho. Manual para técnicos em bioterismo. 2. ed. São Paulo: COBEA-FINEP; 1996. p. 179-84.
8. Neves SMP, Guinski-Chaguri LCA. Biossegurança em biotérios. In: Hirata MH, Mancini Filho J (eds.). Manual de Biossegurança. Barueri: Manole; 2002. p. 349-80.
9. Centro de Desenvolvimento e Apoio Técnico à Educação (CEDATE) – MEC. Programação arquitetônica de biotérios. Brasília: Ed. Ministério da Educação, Gráfica e Editora Independência Ltda., 1986.
10. World Health Organization (WHO). Good Laboratory Practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development. 2nd ed., Geneva. 2001. Disponível em: http://www.who.int/tdr/publications/documents/glp-handbook.pdf. Acessado em 10/10/2011.
11. Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA). Guidelines for laboratory animal facility. Indian J Pharmacol. 2003; 35:257-74.
12. Munkelt FH. Odor control in animal laboratories. Heating, piping and air conditioning. 1938; 10:189-91.
13. Clough G. The animal house: design, equipment and environmental control. In: Trevor PB. The UFAW Handbook on the care and mangement of laboratory animals. 6. ed. Avon: Longman Group; 1987. p. 108-43.
14. Lang C, Vessel ES. Introduction. In: Environmental and genetics factors affecting laboratory animals: Impact on biomedical research. 59th annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology. New Jersey; 1976.
15. Besch EL. Environmental quality within animal facilities. Lab Anim Sci. 1980; 30(2):385-406.
16. Lane-Petter W. The animal house and its equipment. In: UFAW-C.H. Hume, editor. The UFAW Handbook on the management of laboratory animals. 5. ed. Edinburgh: Churchill Livingston; 1976.
17. Trexler PC. Animal of defined microbiologicals status. In: Trevor PB. The UFAW Handbook on the care and mangement of laboratory animals. 6. ed. Avon: Longman Group; 1989. p. 85-98.
18. Passos LAC, Alves DP. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal Manual para Técnicos em Bioterismo. São Paulo: COBEA-FINEP; 1996. p. 27-34.
19. Smith MW. Safety. In: Trevor PB. The UFAW Handbook on the care and mangement of laboratory animals. 6. ed. Avon: Longman Group; 1987. p. 170-86.
20. Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR). Comittee on Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington: National Academy of Sciences; 1985. p. 11-31.
21. Merusse JLB. Equipamento para criação e manutenção de animais utilizados em experimentação biomédica e respectivo processo de distribuição unidirecional do ar. Revista de Propriedade Industrial. 1995;1262:28.
22. Teixeira MA, Sinhorini IL, Souza NL, Merusse JLB. Microenvironmental ventilation system for laboratory animal facilities with air distirbution by means of plennun chambers. Animal Technology. 1999;50(3):187-94.
23. Chaguri LCAG, Souza NL, Teixeira MA, Carissimi AS, Merusse JLB. Evaluation of reproductive indices in rats (Rattus norvergicus) housed under an intracage ventilation system. Contemp Top Lab Anim Sci. 2001;40:25-30.
24. Carissimi AS, Chaguri LACG, Teixeira MA et al. Effects of two ventilation systems and bedding change frequency on cage environmental factors in rats (Rattus norvegicus). Animal Technology. 2000;51(3):161-70.
25. Broderson JR, Lindsey RJ, Crawford JE. The role of environmental ammonia in respiratory micooplasmosis of rats. American Journal of Pathology. 1976;85(1):115-27.
26. Corning BF, Lipman NS. A comparison of rodent caging systems based on microenvironmental parameters. Laboratory Animal Science. 1991;41(5):498-503.
27. Baer LA et al. Effects of the use of filtered microisolator toops on cage microenvironment and growth rate of mice. Laboratory Animal Science. 1997;147(3):327-9.
28. Martinewski A, Correia CS, de Souza NL, Merusse JL. Mouse housing system using pressurized cages intraventilated by direct-current microfans. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2012;51(2):177-80.
29. Massironi SMG. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal Manual para Técnicos em Bioterismo. São Paulo: COBEA-FINEP; 1996. p. 149-55.
30. National Research Council (NRC). Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington DC: NCR – National Academic Press; 2011.
31. Ford DJ. Nutrition and feeding. In: Poole TB, editor. The UFAW Handbook on the care and mangement of laboratory animals. 6. ed. Harlow: Longman; 1987. p. 35-57.
32. Neves SP. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal Manual para Técnicos em Bioterismo. São Paulo: COBEA-FINEP; 1996. p. 87-107.
33. Massironi SMG. Cuidados e manejo de animais de laboratório. São Paulo: Atheneu; 2009. p. 385-98.
34. Afif MO, Rosenkranz A. Guia para el uso de animales de laboratorio, parte I. Bogotá: Universidad Nacional de Colômbia; 1990. p. 49-56.
35. Canadian Council on Animal Care (CCAC). Guide to the care and use of experimental animals. v. 1. Ontario: CCAC; 1980.

36. Rodrigues UP et al. Manual de biossegurança. São Paulo: Divisão Biotério Central do Instituto Butantan; 1998.
37. Fraser CM, Mays A. The Merck veterinary manual: A handbook of diagnosis, therapy and disease prevention and control for the veterinarian. 7th ed. Rahway, NJ: Merck; 1991.
38. Schnurrenberger PR, Hubbert WT. An outline of the zoonoses. Ames, IA: Iowa State University; 1981.
39. Anon. The use of non-human primates in laboratories. The Lancet. 1987:286.
40. Kaplan JE, Balk M, Brock B et al. Guidelines for prevention of Herpesvirus simiae (B-Vírus) infection in monkey handlers. Laboratory Animal Science. 1987;37:(6):709-12.
41. Schulhof J. Group sets precedents for monkey bite treatment. Laboratory Animal. 1990;19(2):11.
42. Kalter SS, Heberling RL. B-vírus infection of primates in perspective. Laboratory Animal. 1989:31-4.
43. Baulu J, Everard COR, Everard JD. Leptrospires in vervet monkeys (Cercophipthecus aethiops sabaeus) on Barbados. Journal Wilds Disease. 1987;23(1):63-8.
44. Dance DAB, King C, Aucken H, Knott CD, West PG, Pitt TL. An outbreak of melioidosis in imported primates in Britain. Vet Rec. 1992;130(24):525-9.
45. Kibby T, Powell G, Cromer J. Allergy to laboratory animals: a prospective and cross-sectional study. Journal Occupational Medicine. 1989;31(10):842-6.
46. Slovak AJM, Hill RN. Does atopy have an predictive value for laboratory animal allergy. A comparison of different concepts of atopy. British Journal Industrial Medicine. 1987;44:129-32.
47. Swanson MC, Campbell AR, O'Hollare MT, Reed CE. Role of ventilation, air filtration, and allergen production rates in determining concentrations of rat allergens in the air of animals quarter. An Rev Respiratory Disease. 1990;141(6):1578-81.
48. Botahm PA, Davies GE, Teasdale EL. Allergy to laboratory animals: a prospective study of its incidence and of the influence of atopy on its development. British Journal Industrial Medicine. 1987;44:627-32.
49. Lutsky I. A worldwide survey of management practices in laboratory animal allergy. Annimal Allergy. 1987;58:243-7.
50. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de ciência e tecnologia (DECIT). Classificação de riscos dos agentes biológicos. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2006. 36p.

capítulo 13

Biossegurança em biotecnologia industrial

Adalberto Pessoa Júnior
Bronislaw Polakiewicz
José Abrahão Neto
Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira

INTRODUÇÃO

Os processos biotecnológicos vêm sendo, há séculos, utilizados para produzir pão, vinho, cerveja ou alimentos com microrganismos vivos como iogurtes, queijos e embutidos. Mais recentemente, a biotecnologia passou a ser utilizada para produção de uma grande quantidade de outros produtos como vitaminas, antibióticos, enzimas, ácidos orgânicos, exopolissacarídeos, plantas híbridas, aminoácidos, anticorpos monoclonais e insulina[1-3]. Os processos biotecnológicos compreendem uma série de etapas interligadas com uma ou mais operação unitária (Figura 1)[4]. As operações utilizadas nos processos biotecnológicos podem ser simples, como o preparo do meio de cultivo, ou mais complexas, como a fermentação, a centrifugação e a liofilização. Porém, todas as etapas têm o potencial para gerar compostos que causam riscos à saúde humana. Esses compostos podem

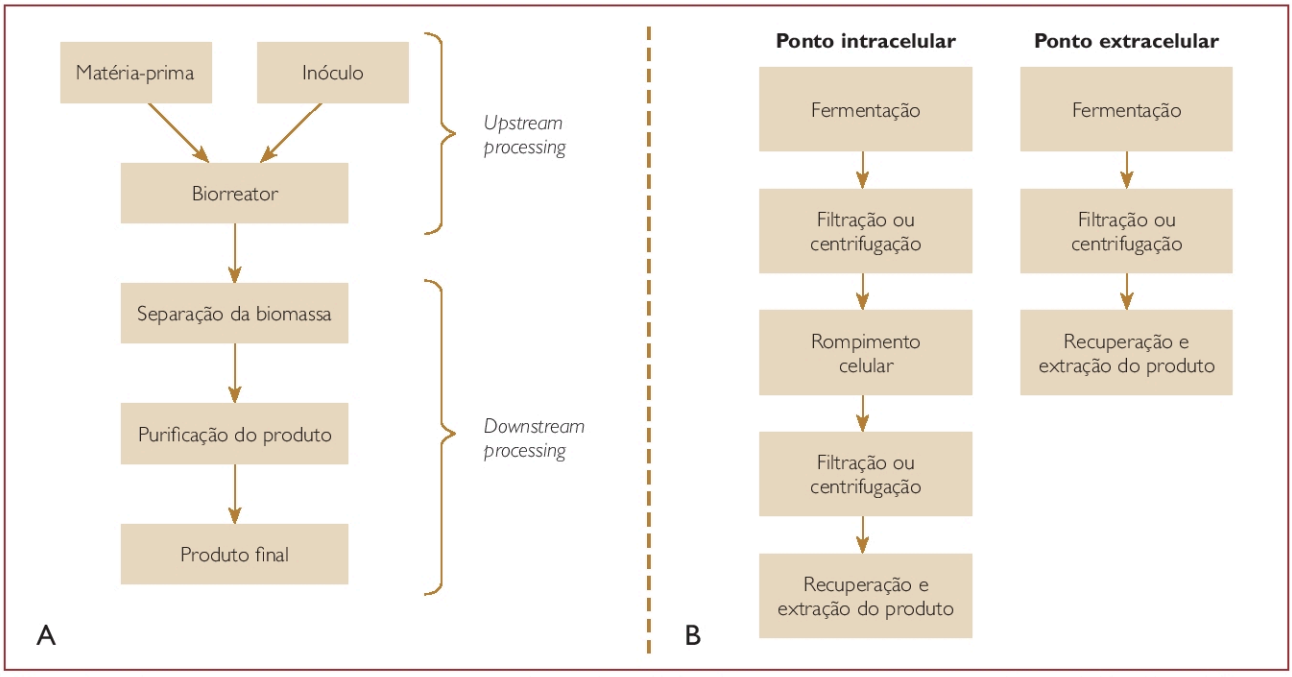


Figura 1. Esquema genérico de um processo biotecnológico (A) e fluxograma de um processo fermentativo típico (B).

ser tanto a própria matéria-prima como os microrganismos, o produto final bruto, os subprodutos, os resíduos e o produto final purificado. Os riscos de um processo biotecnológico podem ser reduzidos ou completamente eliminados se aplicadas as recomendações necessárias[5]. Algumas delas serão abordadas neste capítulo.

Para evitar a ocorrência de acidentes na indústria biotecnológica, alguns fatores têm de ser levados em conta, como instruções de trabalho adequadas, supervisão eficiente, cumprimento de normas, controle de qualidade, *layout* e manutenção adequados, controle e tratamento de ar e resíduos, higiene pessoal, jornada de trabalho, auditorias e treinamento de pessoal[6,7].

A exposição do ambiente de trabalho a microrganismos indesejáveis tem início no laboratório de pesquisa e continua pelo desenvolvimento, pela ampliação de escala e fabricação. A biossegurança de um laboratório de pesquisa descreve os princípios de tecnologia, prática e controle que são implementados para impedir qualquer exposição a agentes patogênicos e toxinas. Além disso, possui medidas de segurança pessoal e institucional destinadas a evitar a perda, roubo e/ou uso indevido de organismos patogênicos e toxinas. A falha em qualquer laboratório de biossegurança pode comprometer as operações institucionais, além de provocar riscos à comunidade e ao meio ambiente[8]. O risco à exposição cresce com o aumento da escala do processo e com o número de operações que envolvem manipulação de proteínas humanas ou vetores para terapia genética humana. O principal meio de contaminação é por inalação de aerossóis ou absorção pela pele[7]. No entanto, práticas apropriadas, equipamentos e instalações adequadas podem reduzir os riscos significativamente. Deve-se notar que não há forma única e correta para atingir um nível aceitável de contaminação. Dependendo do agente e do processo, uma série de técnicas pode ser utilizada[9].

As primeiras instalações projetadas para cultivar microrganismos recombinantes em larga escala são do início da década de 1980 e, desde então, têm como objetivo a produção de anticorpos monoclonais, proteínas de *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae, Clostridium acetobutylicum* e de células animais[1,7,9,10]. Posteriormente, desenvolveram-se novos tipos de instalação e, em função disso, alguns padrões e conceitos de biossegurança foram estabelecidos por projetistas e pesquisadores e aceitos pelas indústrias[9-11]. Esses padrões tiveram sua origem nas normas estabelecidas pelo Instituto Nacional de Saúde[12] dos Estados Unidos e emendadas várias vezes desde a primeira publicação ocorrida em 1976[1,10]. Após algumas revisões desse manual foi definida uma categoria de equipamentos que utilizavam materiais biológicos, denominada "Boas Práticas de Ampliação de Escala (BPAE)". Essa nova categoria visava proporcionar a utilização de novos organismos sem que se colocasse em risco o meio ambiente[10].

Nos últimos 25 anos não tem sido revelado quaisquer riscos específicos associados com a ampliação de escala em relação à preparação comercial de produtos biotecnológicos. No entanto, as preocupações sobre os riscos foram responsáveis pela maior segurança e regulamentação dos organismos geneticamente modificados (OGM)[13]. Para avaliar esses riscos deve-se dispor de medidas de biossegurança baseadas na implantação de tecnologias em todas as etapas de processo de qualquer tipo de indústria biotecnológica. Além de tecnologias adequadas, é preciso ter uma organizada gestão de equipe, cuja missão é impor políticas, regras e regulamentos adequados relativos ao biorrisco, evitando desta forma eventos de bioterrorismo[14].

Portanto, o aprimoramento de tecnologias, como BPAE, proporciona o uso seguro de novos organismos utilizados pelas indústrias, aumentando assim, o nível de confiança das autoridades que regulam o processamento de biofármacos com auxílio de recombinantes e dos procedimentos industriais[9,10].

Este capítulo descreve alguns projetos e processos básicos da forma como eles existem em várias indústrias que operam com organismos recombinantes. Porém deve-se ressaltar que eles são continuamente modificados.

NÍVEIS DE OPERAÇÃO

No Manual de Pesquisas Envolvendo Moléculas de DNA Recombinantes do National Institutes of Health (*NIH Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules*) são estabelecidos, no Apêndice K, Seção III-B-5 (US, 1994), quatro níveis de classificação dos cultivos de organismos geneticamente modificados em larga escala[15]. Esses quatro níveis são: 1. Boas Práticas de Ampliação de Escala (BPAE); 2. Nível de Biossegurança 1 – Escala Ampliada (NS1-EA); 3. Nível de Biossegurança 2 – Escala Ampliada (NS2-EA); e 4. Nível de Biossegurança 3 – Escala Ampliada (NS3-EA). O nível mais baixo é o BPAE e aumenta até o NS3-EA[10].

Os níveis de classificação dos processos biotecnológicos são definidos em função do grau de risco oferecido aos trabalhadores e ao meio ambiente. No entanto, é importante ressaltar que esses níveis de biossegurança baseiam-se nos riscos causados pelo organismo que está sendo utilizado no processo e não pelos seus produtos[15]. A seguir, apresentam-se os critérios adotados para cada nível de classificação citado.

BOAS PRÁTICAS DE AMPLIAÇÃO DE ESCALA (BPAE)

Em 1986, a Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Co-operation and Development – OECD) publicou o

conceito de BPAE[10]. Em julho de 1991 o INS adotou esse mesmo conceito e em 1992 ampliou-o conforme nova publicação da OECD. Portanto, o INS recomenda a classificação BPAE

> [...] para trabalhos de pesquisa e produção em larga escala envolvendo microrganismos viáveis, não patogênicos e cepas recombinantes não toxicogênicas derivadas de hospedeiros que tenham uma extensa história de uso seguro em larga escala ou que tenham demonstrado ser de baixo risco.

O instituto recomenda, ainda, que o termo BPAE seja aplicado aos organismos incluídos nos Apêndices C e K-II do Manual do INS, que tenham sido construídos para ser cultivados em larga escala, porém com limitações de sobrevivência de tal forma que não causem consequências adversas ao meio ambiente. Para um organismo ser considerado BPAE, ele deve apresentar as seguintes características:

1. O organismo hospedeiro não pode ser patogênico, deve possuir um extenso histórico de segurança em uso industrial e não oferecer risco ao meio ambiente.
2. O vetor utilizado deve ser bem caracterizado, livre de sequências prejudiciais, ter seu tamanho limitado ao máximo possível para executar apenas as funções pretendidas, ser de pouca mobilidade e não apresentar qualquer resistência ou comprometer controles de drogas ou de agentes causadores de doenças em seres humanos, animais e plantas.
3. Têm de ser formulados e implementados, pela empresa ou instituição, códigos práticos que garantam o adequado controle de saúde e segurança.
4. Têm de ser providenciadas instruções escritas e treinamento de pessoal para garantir que o manuseio de organismos viáveis com DNA recombinante sejam feitos prudentemente e o ambiente de trabalho mantenha-se limpo e organizado.
5. Cuidar da higiene pessoal dos trabalhadores com a instalação de alguns equipamentos (pia para lavagem de mão, chuveiro, vestiário) e roupas de proteção (uniformes, jalecos).
6. Proibir, na área de trabalho, o consumo de alimentos e bebidas, fumo, uso de cosméticos e pipetagem com a boca.
7. Manusear os organismos geneticamente modificados em equipamentos que garantam a segurança pessoal.
8. O descarte de material que contém organismos recombinantes tem de ser feito de acordo com os regulamentos previstos em lei.
9. A entrada de materiais ao sistema, a coleta de amostras, a transferência de culturas na forma líquida entre sistemas e o processamento de fluidos têm de ser feitos de tal forma que mantenham a exposição dos empregados aos organismos viáveis com DNA recombinante em um nível que não comprometa a saúde e a segurança.
10. Elaborar um plano de emergência que informe os equipamentos e as provisões necessários para o correto manuseio de derramamentos.

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 1 – ESCALA AMPLIADA (NS1-EA)

A seguir, estão as recomendações deste nível de biossegurança.

1. Derramamentos e acidentes que resultem em exposição pública aos organismos que contêm moléculas de DNA recombinante têm de ser imediatamente relatados ao diretor do laboratório. Devem ser providenciadas avaliações médicas e tratamentos adequados, assim como manter registros por escrito dos fatos ocorridos.
2. Os cultivos de organismos viáveis com DNA recombinante têm de ser manuseados em sistemas fechados ou equipamentos de contenção primária projetados para reduzir o potencial de escape desses organismos.
3. Meios de cultura líquidos não devem ser removidos de um sistema fechado ou de equipamentos de contenção primários sem que os organismos viáveis com DNA recombinante tenham sido inativados por um procedimento validado.
4. A coleta de amostras de sistemas fechados, a adição de materiais aos sistemas fechados e a transferência de meio de cultura líquido de um sistema fechado a outro têm de ser feitas de maneira que minimizem a liberação de aerossóis ou a contaminação de superfícies expostas.
5. Os gases de exaustão, retirados de um sistema fechado ou de um equipamento de contenção primária, têm de ser tratados com auxílio de filtros eficientes ou por processo equivalente, como a incineração, para minimizar a liberação desses organismos modificados ao meio ambiente.
6. Os sistemas fechados ou outros equipamentos de contenção primária não devem ser abertos para manutenção ou limpeza, sem que sejam esterilizados por um método validado.
7. Elaborar um plano de emergência que informe os equipamentos e as provisões necessários para o correto manuseio de derramamentos em grandes volumes.

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 2 – ESCALA AMPLIADA (NS2-EA)

1. Os cultivos de organismos viáveis que contêm DNA recombinante têm de ser manuseados em sistemas fechados ou equipamentos de contenção primária projetados para reduzir o potencial de escape desses organismos.
2. Meios de cultura líquidos não devem ser removidos de um sistema fechado ou de equipamentos de contenção primários sem que os organismos viáveis com DNA recombinante tenham sido inativados por um procedimento validado.
3. A coleta de amostras de sistemas fechados, a adição de materiais aos sistemas fechados e a transferência de meio de cultura líquido de um sistema fechado a outro têm de ser feitas de maneira que minimizem a liberação de aerossóis ou a contaminação de superfícies expostas.
4. Os gases de exaustão, retirados de um sistema fechado ou de um equipamento de contenção primária, têm de ser tratados com filtros eficientes ou por processo equivalente, como a incineração, para minimizar a liberação desses organismos modificados ao meio ambiente.
5. Os sistemas fechados ou outros equipamentos de contenção primária não devem ser abertos para manutenção ou limpeza, sem que sejam esterilizados por um método validado.
6. A propagação e o crescimento do organismo viável com DNA recombinante devem ser feitos em sistema fechado com selos rotativos, ou qualquer outro acessório mecânico, projetados para prevenir vazamentos ou ser totalmente fechados em ambientes ventilados com sistema de exaustão e filtração de gases.
7. O sistema fechado utilizado para propagação e crescimento de organismos viáveis com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária têm de ter sensores que monitorem a integridade do sistema durante as operações.
8. O sistema fechado utilizado para propagação e crescimento de organismos viáveis que com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária têm de ter sua integridade testada antes do início de qualquer operação. As informações obtidas dos testes de integridade têm de ser registradas e arquivadas.
9. O sistema fechado utilizado para propagação e crescimento de organismos viáveis com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária devem estar permanentemente identificados. Essa identificação deve ser utilizada em todos os registros dos testes, operações e manutenções e em todos os documentos que relatam o uso dos equipamentos para pesquisa e produção.
10. O símbolo universal que indica Risco Químico ou Biológico deve ser colocado em cada sistema fechado e equipamento de contenção primária.
11. Elaborar um plano de emergência que informe os equipamentos e as provisões necessários para o correto manuseio de derramamentos em grandes volumes.

NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA 3 – ESCALA AMPLIADA (NS3-EA)

1. 1. Derramamentos e acidentes que resultem em exposição pública aos organismos que contêm moléculas de DNA recombinante têm de ser imediatamente relatados à Comissão de Biossegurança para tomar as devidas providências.
2. Os cultivos de organismos viáveis com DNA recombinante têm de ser manuseados em sistemas fechados ou equipamentos de contenção primária projetados para reduzir o potencial de escape desses organismos.
3. Meios de cultura líquidos não devem ser removidos de um sistema fechado ou de equipamentos de contenção primários sem que os organismos viáveis com DNA recombinante tenham sido inativados por um procedimento validado.
4. A coleta de amostras de sistemas fechados, a adição de materiais aos sistemas fechados e a transferência de meio de cultura líquido de um sistema fechado a outro têm de ser feitas de maneira que minimizem a liberação de aerossóis ou a contaminação de superfícies expostas.
5. Os gases de exaustão, retirados de um sistema fechado ou de um equipamento de contenção primária, têm de ser tratados com filtros eficientes ou por processo equivalente, como a incineração, para minimizar a liberação desses organismos modificados ao meio ambiente.
6. Os sistemas fechados ou outros equipamentos de contenção primária não devem ser abertos para manutenção ou limpeza, sem que sejam esterilizados por um método validado.
7. Os sistemas fechados utilizados para cultivo de organismos viáveis que contêm DNA recombinante têm de ser operados de tal forma que o espaço acima do nível do cultivo seja mantido sob a menor pressão possível.
8. A propagação e o crescimento do organismo viável com DNA recombinante devem ser feitos em sistema fechado com selos rotativos, ou qualquer outro acessório mecânico, projetados para prevenir vazamentos ou ser totalmente fechados em ambientes ventilados com sistema de exaustão e filtração de gases.

9. O sistema fechado utilizado para propagação e crescimento de organismos viáveis com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária têm de ter sensores que monitorem a integridade do sistema durante as operações.
10. O sistema fechado utilizado para propagação e crescimento de organismos viáveis com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária têm de ter sua integridade testada antes do início de qualquer operação. As informações obtidas dos testes de integridade têm de ser registradas e arquivadas.
11. O sistema fechado usado para propagação e crescimento de organismos viáveis com moléculas de DNA recombinante e outros equipamentos de contenção primária devem estar permanentemente identificados. Essa identificação deve ser utilizada em todos os registros dos testes, operações e manutenções e em todos os documentos que relatam o uso dos equipamentos para pesquisa e produção.
12. O símbolo universal que indica Risco Químico ou Biológico deve ser colocado em cada sistema fechado e equipamento de contenção primária.
13. Elaborar um plano de emergência que informe os equipamentos e as provisões necessários para o correto manuseio de derramamentos em grandes volumes.
14. Os sistemas fechados e outros equipamentos de contenção primária empregados no manuseio de culturas de organismos viáveis que contêm moléculas de DNA recombinante têm de estar alocados em uma área controlada que satisfaça às seguintes exigências: a) ela deve conter uma entrada separada com espaço para duas portas com ar entre elas; b) as superfícies das paredes, tetos e pisos da área controlada devem ser de fácil limpeza e descontaminação; c) todos os equipamentos e encanamentos de entrada na área controlada têm de ser protegidos contra contaminação; d) os equipamentos de lavagem de mão que sejam operados automaticamente com os pés ou cotovelos têm de ser alocados em todas as grandes áreas de trabalho e perto das saídas; e) um chuveiro deve ser instalado próximo da área controlada; f) a área de controle precisa ser possuir obstáculos à saída de fluidos em caso de acidentes; g) a área de controle deve ter um sistema de ventilação capaz de controlar o movimento do ar, que deverá partir das áreas de menor para as áreas de maior potencial de contaminação; h) o ar de saída da área controlada não deve ser recirculado para outras áreas nem descarregado para a área externa sem ser filtrado, submetido à oxidação térmica ou tratado para prevenir a liberação de organismos viáveis.
15. As seguintes práticas operacionais e de pessoal têm de ser exigidas: a) a entrada de pessoal para a área de controle deve ser específica para esse fim; b) as pessoas que adentram a área controlada precisam trocar as próprias roupas por outra vestimenta mais adequada, como jaleco, gorro, óculos, luvas e sapatos; c) na saída da área controlada a roupa deve ser retirada, descontaminada e encaminhada para lavagem; d) todas as pessoas que entrarem nas áreas de controle no horário de trabalho devem ser previamente informadas das práticas operacionais, procedimentos de emergência e da natureza do trabalho que está sendo conduzido; e) pessoas com idade inferior a 18 anos não devem ter autorização para entrar na área de controle; f) o símbolo universal de Risco Químico e Risco Biológico tem de estar afixado nas portas de entrada da área controlada e em todas as portas internas; g) um sinal colocado na porta de entrada deve conter as informações sobre os agentes em uso no processo e o nome do pessoal autorizado a entrar na área controlada; h) a área controlada deve estar organizada e limpa; i) é proibido comer, beber, fumar e estocar alimentos na área controlada; j) deve-se manter um programa efetivo de controle de insetos e roedores; k) as portas de acesso à área de controle têm de estar sempre fechadas; l) as pessoas têm de lavar as mãos ao deixar a área de controle; m) as pessoas que trabalham na área de controle têm de ser treinadas para agir em casos de emergência; n) a área de controle deve possuir equipamentos e materiais necessários ao gerenciamento de acidentes que envolvam organismos geneticamente modificados; o) após derramamentos ou outros acidentes, a área de controle deve ser descontaminada conforme os procedimentos previamente estabelecidos.

Cada instituição ou empresa que trabalha com organismos geneticamente modificados, tanto na área de pesquisa como de produção, deve possuir uma Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) que revise e aprove os trabalhos a serem conduzidos com esses organismos. Ao mesmo tempo essa comissão deve seguir as normas estabelecidas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), que regulamenta o nível mais adequado a cada espécie recombinante[10].

De modo geral, os processos industriais empregam organismos recombinantes de baixos níveis de risco e/ou que possuem um histórico de uso industrial classificado como BPAE. Por exemplo, as bactérias *E. coli*, derivadas da cepa K-12, são muito bem caracterizadas, completamente atenuadas, não-patogênicas e aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration)[7,10]. Elas são usadas para produzir insulina e hormônio de crescimento humano. Algumas cepas de leveduras são utilizadas para produzir insulina humana e vacinas contra a hepatite; e

células do ovário de hamster chinês são empregadas na obtenção de ativador de plasminogênio e eritropoetina[10]. As plantas industriais que visam à obtenção desses produtos podem ser projetadas para operar de acordo com a classificação BPAE, ou no máximo, NS1-EA. No entanto, a tendência na indústria farmacêutica tem sido excessivamente conservadora quando há envolvimento de situações de risco. Isso faz com que muitas empresas implantem projetos indicados para processos com níveis de classificação superiores aos que de fato serão utilizados, pois os custos adicionais são relativamente baixos[10].

Apesar de o superdimensionamento do processo poder gerar dúvidas sobre o verdadeiro grau do risco causado pelo organismo empregado na indústria, ele apresenta a vantagem de oferecer maior flexibilidade ao processo nos casos em que seja necessário fazer rearranjos do *layout*, implantar processos que utilizam novos organismos modificados geneticamente ou adaptar as normas de biossegurança[10].

A primeira etapa do processo para determinar as melhores condições para alocar um projeto e/ou processo é definir seu nível de contenção física. Esses níveis foram estabelecidos pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos descrito no Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules[12]. Quatro níveis de contenção foram propostos para aplicação em trabalhos de pesquisa e processos biotecnológicos em larga escala, como: primária, secundária, terciária e contenção biológica. O termo "larga escala" será aplicado neste capítulo para os cultivos que utilizam volumes superiores a dez litros[7,10,15] ou para concentrados celulares com mais de um kg.[5]

CONTENÇÃO PRIMÁRIA

Contenção primária consiste na provisão de barreiras físicas imediatas à liberação de compostos de risco e deve ser prevista no projeto de implantação do processo biotecnológico. Um exemplo simples de contenção primária é o uso de tampas rosqueáveis nos frascos e nas garrafas. Num caso mais complexo, como o de um biorreator, a contenção primária é representada pela instalação de selos de vedação em todas as conexões e filtros nos gases de saída. Portanto, a principal função da contenção primária é prevenir a liberação do conteúdo dos equipamentos e utensílios do processo[5].

CONTENÇÃO SECUNDÁRIA

A contenção secundária é instalada para auxiliar no caso de falhas na contenção primária. Ela proporciona algum tipo de retenção física e muitas vezes é considerada uma otimização da contenção primária. Em função disso, para alguns autores a contenção primária e secundária são idênticas. Neste capítulo, essa distinção está sendo considerada, pois é importante diferenciar o tipo de contenção inerente aos equipamentos e utensílios dos adicionados para auxiliar suas falhas[5].

CONTENÇÃO TERCIÁRIA

Este tipo de contenção descreve o uso de instalações que visam prevenir a contaminação do ambiente externo ao laboratório ou à área de produção. Como exemplo temos a instalação de filtros de ar com fluxos direcionados, tratamento de efluentes e outros procedimentos operacionais[5].

CONTENÇÃO BIOLÓGICA

Neste caso, os organismos são modificados geneticamente para que sobrevivam, desenvolvam-se e transmitam suas informações genéticas, apenas em meios de crescimento bem específicos. Essas características proporcionam um importante coadjuvante aos sistemas físicos de contenção, pois reduzem os riscos inerentes à liberação do organismo para o meio externo[5].

Serão apresentadas a seguir algumas recomendações para uso em processos biosseguros classificados como nível NS2-EA[10].

PROJETO ARQUITETÔNICO

A distribuição dos equipamentos em uma planta de produção é feita em função das operações de produção do bioproduto e pode ser dividida em: acabamento, higienização, vestuário, segurança, sinalização e ventilação[10].

Acabamento

Em geral, todas as superfícies de trabalho têm de ser de fácil limpeza. As bancadas e as superfícies dos equipamentos têm de ser impermeáveis à água e resistentes aos produtos químicos utilizados no processo de produção. Essas exigências levam ao amplo uso do aço inoxidável e do epóxi em processos biotecnológicos industriais. Quando a descontaminação ou a sanitização é feita com hipoclorito, recomenda-se o uso do epóxi em substituição ao aço inoxidável, pois esse material pode ser atacado quando exposto a esse reagente[10].

A localização dos equipamentos e do mobiliário deve permitir sua limpeza adequada. Sugere-se que os equipamentos sejam dispostos acima do piso ou sobre plataformas móveis. De preferência eles não devem ficar encostados nas paredes nem em lugares muito altos. Além disso, todos os orifícios ou locais susceptíveis ao acúmulo de contaminantes precisam ser eliminados.

Quando isso não for possível, deve-se vedar e cobrir o piso ao redor dos equipamentos como prevenção contra vazamentos e transbordamentos[10].

O piso deve ser impermeável e com uma textura que possibilite sua completa limpeza e o tráfego de pessoas quando estiver molhado. As junções entre as paredes e os pisos têm de ser vedadas. Recomenda-se solicitar amostras dos pisos e dos materiais que revestirão as paredes, para serem feitos testes prévios de resistência, textura e impermeabilidade[10].

As paredes e o teto devem ter seu acabamento feito com material não poroso e resistente à umidade. Quando os equipamentos precisarem ser deslocados e, consequentemente, danificar as paredes, recomenda-se revesti-las com material resistente a impactos, como o PVC ou chapas de aço inoxidável. O teto deve ser construído, de preferência, de material facilmente removível em vez de alvenaria. Em alguns casos, isso facilitará o acesso para execução de serviços de manutenção hidráulica ou elétrica[10].

Higienização

Os utensílios utilizados para a higiene pessoal têm de ser de fácil acesso e adequados ao risco de exposição ao organismo geneticamente modificado. Os trabalhadores têm de lavar as mãos com um desinfetante eficiente antes de sair da área de trabalho biossegura. Sugere-se instalar uma simples pia de aço inoxidável para a lavagem das mãos. Para secagem, recomenda-se a instalação de um secador com ar quente em vez de toalhas de papel[10].

Vestuário

É aconselhável o uso de uniformes pelo pessoal operacional da indústria biotecnológica. Para as áreas de trabalho classificadas como NS2-EA é suficiente o uso de um jaleco sobre a roupa de uso pessoal. Porém, esses jalecos têm de permanecer restritos à área de uso e não devem ser utilizados em áreas de alimentação ou escritórios. É preciso, também, usar óculos de proteção, protetores para sapatos e cabelos. Para facilitar a troca desses equipamentos de proteção individual deve-se ter um vestiário próximo à entrada da fábrica[10].

Segurança

O acesso à linha de processamento de bioprodutos deve ser restrito a empregados do setor. Todos os locais têm de ser bem sinalizados e as entradas precisam ser controladas com códigos ou cartões. Recomenda-se a instalação de paredes de vidro para facilitar a visualização da linha de produção por visitantes. Isso evitará a entrada de pessoas estranhas ao trabalho e proporcionará proteção contra contaminação às pessoas e aos produtos. Aconselha-se, ainda, minimizar as atividades de manutenção industrial na linha de produção. Para isso, deve-se instalar o máximo possível de acessórios e equipamentos em áreas adjacentes e isoladas do processo produtivo. Isso diminuirá a exposição do pessoal de manutenção e preservará o ambiente com baixo nível de contaminação[10].

Sinalização

Placas com aviso de Risco Biológico têm de ser colocadas na parte externa da área de produção. Além do símbolo universal de Risco Biológico, as placas precisam informar o nível de classificação biossegura, a lista de agentes em uso, o pessoal responsável, a vestimenta exigida e um contato em caso de emergência disponível. Recomenda-se indicar o setor de segurança da empresa para contatos de emergência. Nesse caso, o setor de segurança funciona como um centro de comunicação, notificação e indicação de pessoal treinado para situações de emergências[10].

Ventilação

No ambiente onde se trabalha diretamente com o organismo geneticamente modificado, denominado de primário, deve-se manter o sistema fechado ou utilizar câmaras biosseguras como exigido pelas operações em áreas classificadas como NS2-EA. O sistema de ventilação e o controle ambiental têm de funcionar apenas no ambiente denominado de secundário, ou seja, do lado externo ao primário[10].

As Boas Práticas de Fabricação recomendam o uso de fluxo de ar em cascata, ou seja, da área de produção para fora. Mas, dependendo do grau de risco, é preciso considerar um projeto de uma área biossegura que opere com pressões negativas em relação às áreas vizinhas. Isso reduz a disseminação de organismos em caso de falhas no ambiente primário. Sugere-se instalar uma área de controle do ar de entrada no ambiente biosseguro. Essa área pode incluir o local de acesso de pessoal e de movimentação de equipamentos[10].

As normas de biossegurança para áreas classificadas como NS2-EA não exigem a instalação de filtros para suprir ou fazer a exaustão do ar. Porém, elas podem ser usadas para oferecer maior segurança na qualidade do ar de entrada da área de trabalho[10].

EQUIPAMENTOS

Neste capítulo, as etapas de um processo biotecnológico serão divididas em fermentação e processos de recuperação e purificação de bioprodutos. Encontra-se,

também, na literatura o termo em inglês *upstream processing* que engloba a fermentação e as etapas anteriores a ela, como preparo de meio de cultivo e inóculo. Por outro lado, os processos de recuperação e purificação de bioprodutos, como centrifugação, rompimento celular, extração líquido-líquido, filtração, cromatografia e acabamento final, podem ser citados, de forma mais ampla, como *downstream processing* (Figura 1).

Segundo Hambleton et al.[5], a maioria dos problemas de saúde já citados na literatura está associada às etapas de recuperação e purificação de bioprodutos. Isso ocorre porque essas etapas utilizam equipamentos que operam em alta rotação (centrífugas) ou alta pressão (homogeneizadores para rompimento celular, microfiltração e ultrafiltração).

Os principais perigos relacionados aos processos biotecnológicos referem-se à formação, acidental ou não, de aerossóis durante as etapas do bioprocesso. A seguir estão descritas algumas dessas etapas e as recomendações básicas para a condução de um processo biosseguro[5].

Fermentação

O principal risco oferecido pela fermentação é o grande volume de fluido com elevadas concentrações de microrganismos potencialmente alergênicos. No entanto, os biorreatores são equipamentos capazes de operar a alta pressão, apesar de em geral trabalharem a baixas pressões, pois as únicas fontes de entrada de energia são as dos agitadores e aeradores (Figuras 2 e 3). Um fermentador bem projetado deve conter um sistema de filtração do gás de saída para evitar que os aerossóis sejam liberados para o meio ambiente. Na prática, o único ponto com risco potencial em um fermentador é a válvula para retirada de amostras. Nesses casos há, no mercado, válvulas que previnem a liberação de aerossóis para o ambiente[5].

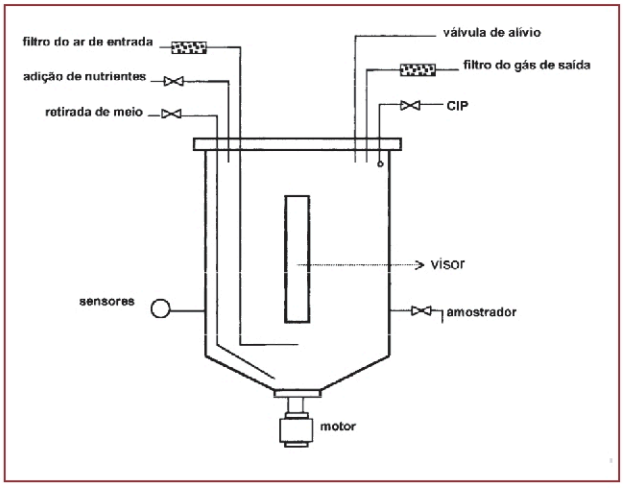


Figura 2. Biorreator com agitação mecânica.

O preparo, a mistura e a dissolução dos componentes do meio de cultivo podem gerar pós alergênicos. Recomenda-se que essa etapa do processo seja realizada em ambiente que contenha um eficiente sistema de exaustão de gases[5].

O primeiro sistema de fermentação projetado para cultivar bactérias patogênicas foi construído no início da década de 1970 e seus princípios básicos de segurança são aplicados até hoje. Os cultivos foram conduzidos em regime descontínuo com volume de meio igual a 20 litros e em regime contínuo com volume de 2,5 litros e não ofereciam risco de escape de aerossóis. O fermentador foi construído em vidro reforçado com resina de poliéster e possuía painéis indicadores de dados, possibilitando o controle do processo. Atualmente, em geral, os fermentadores são esterilizados *in situ*, utilizam vapor e água para controle de temperatura e possuem um sofisticado sistema de controle e monitoramento do processo[5].

As principais características de um sistema de fermentação biossegura em larga escala incluem o uso de barreiras com vapor nas junções com anéis de vedação, selos mecânicos nos eixos dos agitadores, múltiplos

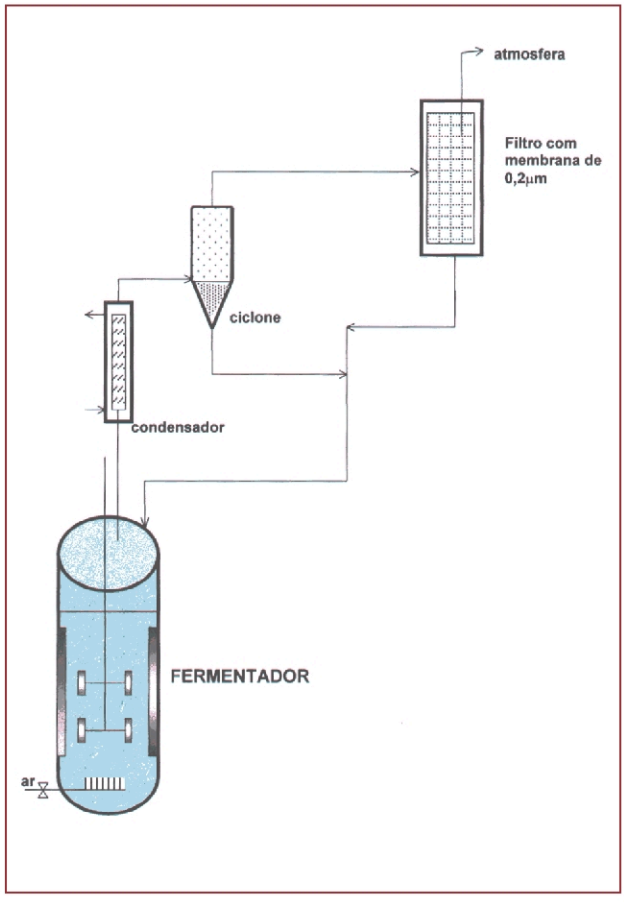


Figura 3. Sistema de tratamento dos gases de saída de um fermentador.

anéis de vedação, encanamento para as linhas de vapor condensado, sistema de alívio de pressão direcionado para um tanque de inativação, duplo sistema de filtração em série dos gases de entrada e de saída e eliminação de junções desnecessárias. Porém, o melhor procedimento para diminuir os riscos de contaminação é a inativação dos microrganismos após a fermentação. Ainda assim, em alguns casos continua havendo a presença de compostos alergênicos no meio. Obviamente, essa inativação só poderá ser feita se não desnaturar o produto-alvo[5].

Sistemas fechados

Os processos fermentativos, originalmente projetados como sistemas fechados para minimizar e prevenir contaminações externas, são eficientes na contenção de organismos recombinantes, pois evitam seu escape para o meio externo. Um fermentador típico contém um sistema de filtração esterilizante do ar de entrada e um formato que possibilita a drenagem completa de seu conteúdo ao final do processo. Não se devem usar acessórios rosqueáveis dentro do biorreator, pois eles precisam ser soldados. Saídas que não são utilizadas têm de ser neutralizadas de tal forma que não se tornem um ponto morto de armazenamento de resíduos[10].

Cabines de Segurança Biológica (CSB)

As Cabines de Segurança Biológica (CSB) pertencentes à classe II são usadas para operações em pequena escala e contêm um eficiente sistema de filtração denominado *High Efficiency Particulate Air* (HEPA). Essas câmaras protegem o operador assim como o material que está sendo manipulado (Figura 4). O ar gerado na CSB, se for de boa qualidade, pode ser recirculado. No entanto, se for tóxico, deve ser enviado para tratamento externo[10].

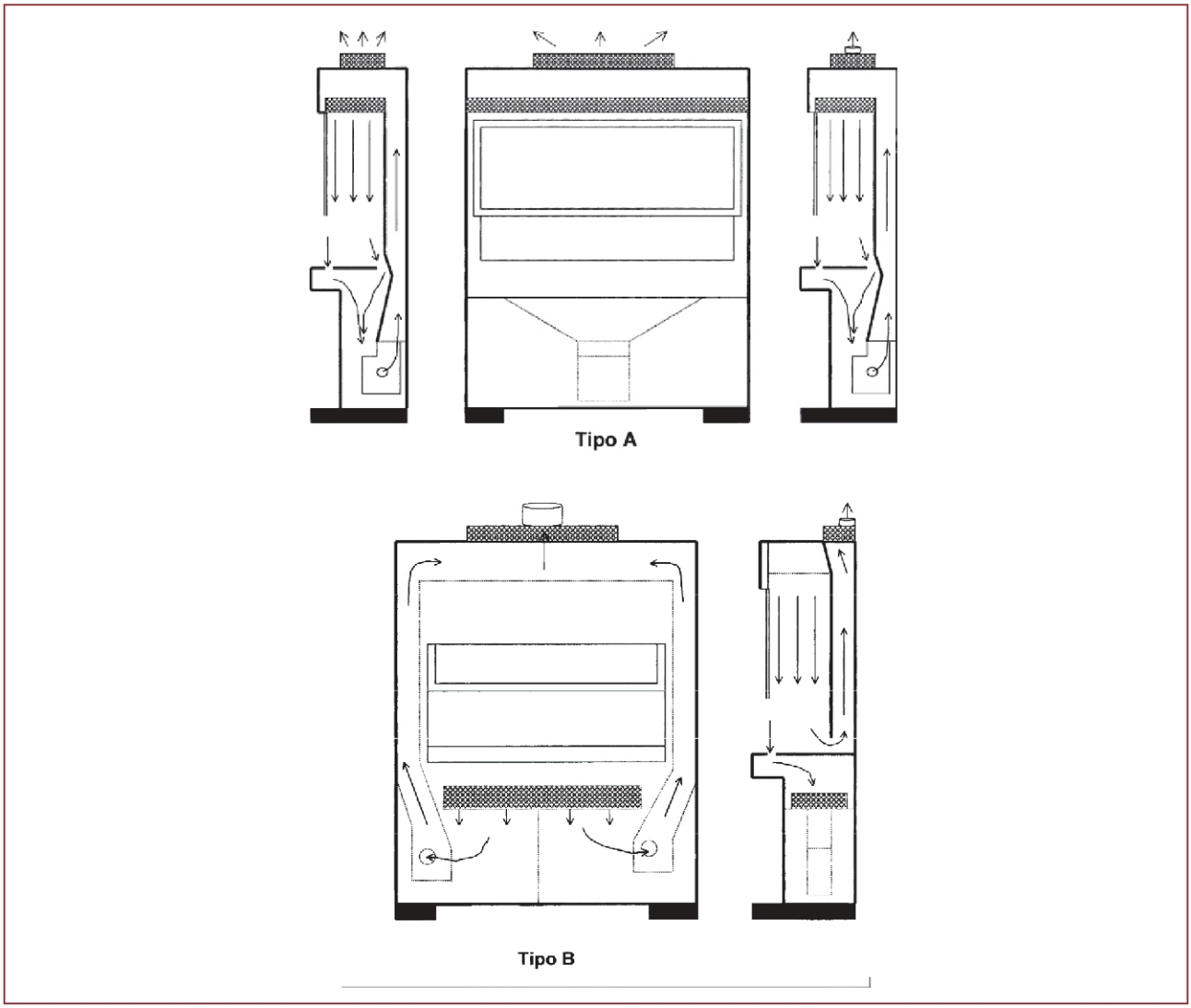


Figura 4. Cabine de Segurança Biológica (CSB) do tipo II.

Centrifugação

A separação da biomassa de um meio de cultivo não é uma operação simples, pois as células são bem pequenas, capazes de formar coloides estáveis, coesivas, e possuem massas específicas muito próximas do meio que as circundam. A separação de fragmentos celulares é um problema mais difícil de ser resolvido e a escolha do método de separação mais adequado é limitada[5].

Centrifugação é uma operação unitária que emprega energia sobre uma elevada concentração de microrganismos a fim de separá-los de uma solução com densidade diferente. As centrífugas de laboratório, quando possuem rotores e tambores selados, não geram aerossóis. Mas as centrífugas que operam continuamente em processos biotecnológicos de larga escala podem ser fontes de riscos, sobretudo, se a remoção do material concentrado for feita manualmente. Mesmo as centrífugas que possuem um sistema interno para remoção do material concentrado e limpeza feita em sistema fechado (CIP - *cleaning in place*) podem gerar aerossóis se o equipamento não for devidamente selado e sempre revisado[5].

As centrífugas de cestos são relativamente baratas e já foram bastante utilizadas pela indústria biotecnológica. Elas são úteis para processos descontínuos de pequenos volumes, mas exigem muito trabalho porque os sólidos centrifugados têm de ser removidos manualmente. Essas centrífugas podem ser empregadas para separar partículas grandes como células floculadas[12]. No mercado pode-se encontrar, atualmente, uma grande variedade de centrífugas, como aquelas projetadas para separação asséptica de células animais e as centrífugas de discos com bicos de ejeção que operam continuamente[5].

Rompimento celular

O rompimento de células tem por objetivo extrair produtos intracelulares, principalmente proteínas, ou remover componentes da parede celular ou da membrana. Para isso, existem os rompimentos físicos (choque térmico, osmótico e ultrassom), mecânicos (moinho de bolas e homogeneizador a alta pressão), químicos (ácidos, álcalis, detergentes e enzimas) e biológicos (vírus). A adequabilidade e o desempenho de cada método dependem da escala de produção, da biomolécula a ser isolada, do tipo de célula a ser rompida e da técnica de rompimento disponível.

Os métodos mecânicos e físicos de rompimento celular são os mais amplamente estudados, pois não incorporam novos compostos ao meio com o bioproduto. Porém, os métodos não físicos, em geral, são de simples operação uma vez que podem ser conduzidos num tanque agitado[5].

O modo de ação de vários tipos de rompedores de células exige a aplicação de elevadas pressões, podendo chegar a 2.700 bar. Se o fluido submetido a essa pressão entrar em contato com selos mal regulados, fatalmente haverá liberação para o meio externo de aerossóis com partículas bastante reduzidas. Possivelmente esses aerossóis não contêm células viáveis, mas podem conter materiais alergênicos ou endotoxinas[5].

Filtração

A filtração é um dos processos mais comumente utilizados, em todas as escalas de processamento, para separar partículas em suspensão presentes em um líquido. Para isso é utilizado um meio poroso que retém as partículas, mas permite a passagem do líquido. Existe, potencialmente, uma grande variedade de equipamentos de filtração disponíveis no mercado para a separação inicial de células. No entanto, a escolha do tipo de filtro a ser empregado em um processo biotecnológico é restrita em função das características dos meios fermentados. A maioria das operações de filtração usadas em processos biotecnológicos de larga escala não apresenta risco potencial de liberação de aerossóis, pois são operações que gastam pouca energia. O único problema na liberação de aerossóis é quando se usa filtro rotativo a vácuo para processos contínuos ou filtro-prensa na separação inicial de sólidos (por exemplo, separação de biomassa) por processos descontínuos. Geralmente, os filtros-prensa são lentos e encontrados em processos biotecnológicos antigos, como na indústria de bebidas fermentadas e destiladas. Os filtros rotativos a vácuo podem ser utilizados para processos contínuos de larga escala e encontrados na indústria alimentar e farmacêutica. Comparando-se, apenas, esses dois tipos de filtro, pode-se dizer que é mais fácil operar assepticamente um filtro rotativo a vácuo com um sistema de exaustão individual do que um filtro-prensa que oferece um grande risco quando se faz a remoção do material biológico concentrado na forma de uma espessa camada[5].

Os filtros que utilizam membranas podem, também, ser utilizados para a separação de células (microfiltração). Porém, podem ser empregados em outras etapas do processo de recuperação e purificação de produtos, como ultrafiltração e osmose reversa. Ultimamente, a filtração tangencial tem chamado a atenção dos profissionais que trabalham com processos biosseguros, pois liberam menos aerossóis e oferecem menos riscos físicos que a centrifugação. Esse tipo de filtração é de fácil ampliação de escala, mas possui a desvantagem de ter um elevado custo de instalação e de operação de troca de membranas. Tradicionalmente, as membranas utilizadas em processos biotecnológicos são compostas de polissulfonas e acetato de celulose.

Recentemente, têm sido encontradas no mercado membranas inorgânicas feitas de cerâmica ou metal. Esse tipo de material, por ser resistente a temperaturas e pressões elevadas, tem despertado o interesse da indústria biossegura[5,16].

Além das membranas, encontra-se no mercado uma grande variedade de tipos de filtro, como os do tipo "quadros e placas", tubulares e fibras ocas. Porém, as características desses filtros não serão abordadas aqui.

Produto final

O manuseio do produto final pode ser a etapa mais perigosa do bioprocesso, pois ele está em sua forma mais concentrada e ativa. O produto acabado de origem biotecnológica encontra-se, normalmente, na forma de pó e está pronto para se converter em aerossol. O manuseio e o processamento desses pós têm de ser feitos em um local com um sistema de exaustão muito bem projetado. Caso seja necessário, recomenda-se a utilização temporária de equipamentos de proteção individual até que um ambiente apropriado seja construído. Quando possível, é preferível que a fabricação e a comercialização sejam na forma líquida ou, no máximo, granulada (grânulos com no mínimo 20 mm de diâmetro). Essa prática reduzirá a formação de aerossóis e sua posterior inalação[5].

Os equipamentos de processamento do produto final, que exigem mais atenção na garantia de um ambiente biosseguro, são os spray driers e os liofilizadores, pois são os mais eficientes geradores de aerossóis[5].

Gases

Os gases gerados pelo sistema de exaustão têm de ser tratados para evitar a liberação de organismos viáveis ao meio ambiente. Os tratamentos sugeridos são a filtração ou incineração, sendo o primeiro deles mais utilizado industrialmente[10].

No caso da filtração, recomenda-se o uso de membranas filtrantes hidrofóbicas com poros de diâmetro igual a 0,2 mm (Figura 3). Esse sistema deve conter, ainda, um mecanismo de checagem constante da integridade da membrana[10].

A maior dificuldade operacional com o sistema de filtração é seu entupimento causado por excesso de umidade ou espuma. Para combater esse problema, é preciso instalar um condensador e um ciclone antes do filtro, como apresentado na Figura 3. Esses dois equipamentos e todo o encanamento devem ser esterilizáveis para evitar contaminação do conteúdo do fermentador[10].

Para processos que geram pouco gás, como o cultivo de células, o filtro pode ser instalado próximo à saída do fermentador, pois isso simplificará a esterilização do processo[10].

Transferências

As transferências incluem a adição ou a remoção de material em um sistema fechado. Nessa definição inclui-se, também, a amostragem. Para evitar a exposição de material durante as transferências, recomenda-se utilizar tubulações que saem do biorreator e vão diretamente para uma garrafa receptora[5,10]. Após as transferências ou coletas de amostras, as conecções têm de ser novamente esterilizadas para evitar contaminação do fermentador[10].

Selos rotativos

Para prevenir a exposição a microrganismos viáveis, sugere-se o uso de selos rotativos que têm a função de evitar vazamentos. Na prática, instalam-se dois selos mecânicos separados entre si por um tubo cheio de fluido, que pode ser vapor puro ou condensado. O fluido é, então, encaminhado diretamente para o sistema de tratamento de resíduo biológico. Caso o selo se rompa, o contaminante é automaticamente destruído e eliminado do sistema. Pode-se também instalar uma torneira logo abaixo do selo mecânico para indicar possíveis falhas[10].

Monitoramento da integridade do sistema

Os sistemas fechados têm de possuir um sensor capaz de monitorar a integridade dos processos biosseguros. As câmaras biológicas de segurança possuem, em geral, um alarme para a indicação de falhas no sistema de exaustão. Devem, também, conter um manômetro com registrador para mostrar a queda de pressão no sistema de filtração HEPA. Esse tipo de controle de fluxo de ar pode funcionar por vários anos, desde que seja controlado o entupimento das membranas[10].

Os fermentadores passam por testes de resistência a altas temperaturas antes de ser operados. Esses testes são importantes para evitar problemas durante a etapa de esterilização[10].

Identificação do sistema

As Boas Práticas de Fabricação recomendam que todos os equipamentos de um processo industrial sejam identificados. Além disso, têm de ser feitos todos os registros de uso e manutenção. No caso de plantas biosseguras esse cuidado é fundamental[10].

As etiquetas de identificação dos equipamentos têm de ser facilmente visíveis, permanentes e informar as condições de trabalho. Etiquetas plásticas têm de ser evitadas, pois não resistem a superfícies quentes. Cada

equipamento deve possuir um livro de registro próprio ou uma base de dados armazenada em computador que deve documentar os usos, os testes, as manutenções e as alterações do sistema[10].

Validação

As Boas Práticas de Fabricação recomendam a validação dos sistemas envolvidos na obtenção de produtos para uso em humanos. A validação de utensílios, de equipamentos e de processos é complexa e não será abordada neste capítulo. No entanto, deve-se planejar um programa de validação durante a fase do projeto de uma planta biossegura[10].

TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Os despejos que contêm organismos recombinantes, pertencentes à classe NS2-EA, têm de ser inativados por um procedimento previamente validado, antes de liberá-los do sistema fechado. As duas técnicas mais frequentemente usadas para a inativação dos efeitos biológicos são inativação térmica e química[10]. Este item aborda, também, o método de inativação descontínuo e contínuo, além de alguns detalhes de projetos que são necessários para a operação adequada do sistema de tratamento de resíduos biológicos[10].

Inativação térmica

A inativação térmica é a mais frequentemente utilizada pelas plantas biosseguras que operam em larga escala. Nessa técnica, o resíduo biológico é aquecido e mantido a uma temperatura suficiente para garantir a inativação do organismo recombinante (Figura 5). Há na literatura um grande volume de informações a respeito de inativação térmica de organismos, pois esse procedimento é amplamente aplicado na indústria farmacêutica e alimentar. Na prática, os ciclos de inativação térmica podem ser projetados como uma operação de esterilização[10].

Inativação química

Este tipo de inativação pode ser feito com auxílio de compostos muito eficientes como o hipoclorito. No entanto, é de uso restrito a operações com pequenos volumes de resíduos bioativos. A principal desvantagem deste processo é a adição de novos compostos químicos ao resíduo industrial, pois podem ser corrosivos e gerar outros tipos de problema[10].

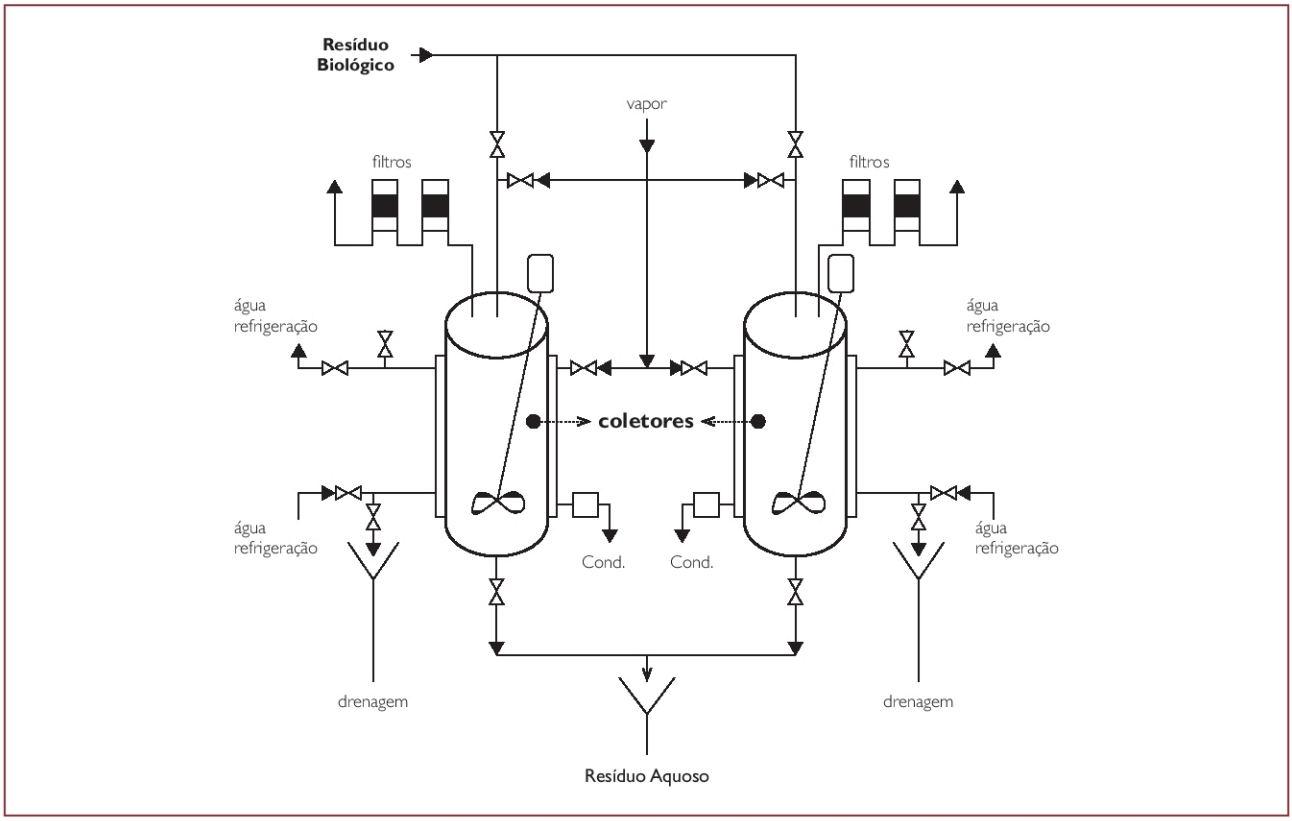


Figura 5. Sistema descontínuo de inativação biológica.

Sistemas descontínuos

O projeto de tratamento de resíduos biológicos em sistema descontínuo pode ser feito no próprio fermentador utilizado para obtenção do produto principal, desde que ele não seja degradado nem cause impacto negativo sobre as operações de recuperação[10].

Os processos descontínuos são mais flexíveis que os contínuos, sendo indicados para aplicação em plantas-piloto ou em equipamentos multipropósitos. Mas os processos descontínuos para tratamento de resíduos exigem maior investimento de capital e mais espaço. O esquema apresentado na Figura 5 mostra um sistema descontínuo típico de inativação térmica. Nele, o resíduo biológico é drenado, por gravidade, do equipamento localizado no piso superior para um dos dois vasos coletores. Um coletor serve para receber o resíduo até que, ao atingir um nível predeterminado, a válvula se fecha e o resíduo passa a ser enviado automaticamente para o segundo coletor. A inativação térmica do coletor cheio de resíduo inicia-se após acionamento do misturador e a injeção de vapor até que se atinja a temperatura recomendada (por exemplo, 121°C por 30 minutos). Após o ciclo de inativação, o conteúdo do coletor é resfriado, com água industrial, até a temperatura de 60°C e encaminhado para o processo de tratamento de resíduo aquoso. Após ser totalmente drenado, o coletor passa a aguardar uma nova batelada de resíduo para inativação[10].

Sistema contínuo

A inativação biológica por processo contínuo é mais típica nas plantas de produção com características do resíduo uniformes e previsíveis. Nesse caso o biorresíduo pode ser aquecido usando um trocador de calor com tempo de residência suficiente para garantir a esterilização *in-line* (Figura 6). Os processos contínuos tendem a ser menos flexíveis que os descontínuos, mas requerem menor investimento de capital e menos espaço[10].

Outros detalhes de projeto de inativação biológica

nos projetos dos sistemas de inativação biológica, algumas particularidades têm de ser consideradas, de acordo com Miller & Bergmann[10], como:

1. Capacidade adequada: não desprezar qualquer tipo de resíduo e utilizar um fator de segurança ao projeto apropriado para que a planta de produção não fique limitada.
2. Materiais apropriados: dar preferência ao aço inoxidável 316L para sistemas soldados. Outros materiais menos comuns podem ser necessários, principalmente se o processo for de inativação química.
3. A instrumentação deve ser suficiente para controlar e documentar a inativação biológica.
4. Pontos de perdas: eliminar pontos mortos nos equipamentos e no processo.

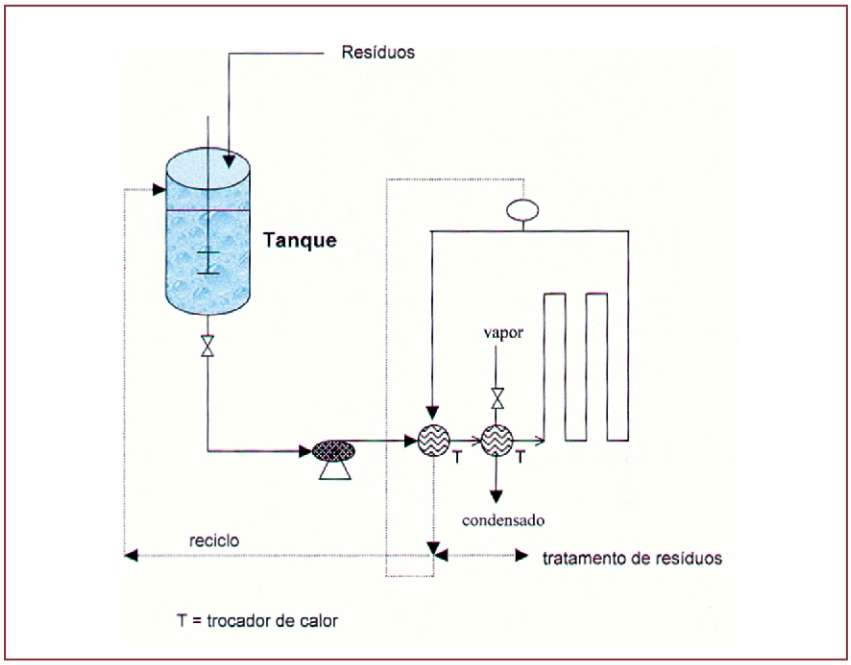


Figura 6. Sistema contínuo de inativação térmica de resíduos biológicos.

5. Controle de odor: se a indústria for localizada perto de zona residencial, deve-se providenciar um sistema de limpeza ou de absorção dos gases de exaustão.
6. Riscos químicos: deve-se providenciar um sistema de neutralização ou outro tipo de tratamento dos resíduos químicos gerados.

Autoclave

Para a descontaminação de resíduos sólidos ou de pequenos equipamentos, é necessária uma autoclave. Esse equipamento não deve ser utilizado para outras finalidades da indústria. É preciso atentar para os fluxos de materiais da produção e dos resíduos para evitar contaminação cruzada. Para isso, recomenda-se o uso de autoclaves com portas duplas[1]. As autoclaves têm de ser convenientemente alocadas para minimizar a distância entre processamento e os pontos de descontaminação[10].

DERRAMAMENTOS

Os processos biológicos requerem o desenvolvimento de um plano de ação contra derramamentos de produto. Esse plano deve conter procedimentos de evacuação, retenção do material derramado, descontaminação e limpeza[10].

Sugere-se alocar um *kit* de ação em uma área segura adjacente às operações com produtos biológicos. Tipicamente, esse *kit* contém equipamentos de proteção individual como botas, jalecos, luvas e máscaras, além de equipamentos para recuperação dos materiais derramados, como rodos, esponjas, panos de chão e baldes. Deve-se ter, também, algum material para descontaminação química emergencial. Um grupo de trabalhadores do local precisa ser treinado para utilizar corretamente os componentes do *kit* de ação, em casos de emergência. Se possível, deve-se instalar uma barreira para retenção de derramamentos ao redor dos grandes equipamentos. Essa barreira deve ser capaz de reter o maior volume possível de processamento do equipamento e ainda possibilitar a adição de produtos químicos para a inativação biológica. A experiência prática indica que o volume da barreira deve ser de 1,5 a 2,0 vezes a capacidade máxima de processamento do equipamento[10].

A drenagem do material derramado deve ser fechada e conectada com o sistema de tratamento de resíduos. Esse cuidado possibilita o envio adequado do material para inativação. Para isso é necessário instalar um sifão com altura para evitar o retorno de aerossóis formados nas áreas de tratamento de resíduos. A instalação de uma válvula de checagem na linha de drenagem assegurará que não haja retorno de resíduo biológico para a área de produção[1].

INTEGRAÇÃO: PROCEDIMENTO *VERSUS* TREINAMENTO

Os processos biotecnológicos montados para serem seguros só atingem seu objetivo se forem operados de forma segura. Além de preparar um processo validado, deve-se criar um eficiente programa de treinamento de pessoal de tal forma que os procedimentos de segurança sejam executados corretamente. Caso contrário, o sistema estará em constante risco. Os processos biosseguros dependem de três ações básicas: projeto, procedimento e treinamento (Figura 7). Se uma dessas ações for mal aplicada, todo o programa de biossegurança entra em colapso[10].

BIOSSEGURANÇA NA PRODUÇÃO DE SOROS E VACINAS

A produção de soros e vacinas constitui uma atividade de grande importância econômica tanto no setor privado como no estatal em alguns países. É uma atividade com perfil diretamente ligado à saúde pública cujas funções são orientadas para o segmento humano e para o veterinário.

No setor veterinário, a prevenção de doenças típicas de animais domésticos e das zoonoses tem importância redobrada, pois elas podem atingir os seres humanos (por exemplo, raiva, leptospirose e tifo). Todas constituem atividades de riscos biológicos tanto individuais como comunitários e, portanto, o projeto de implantação e funcionamento de unidades de produção de imunobiológicos é uma tarefa complexa que envolve muitas especialidades profissionais.

Como são unidades que trabalham com grandes quantidades de material biológico e diferentes graus de risco de segurança, classificados em uma escala de segurança padronizada de 1 a 4, essas indústrias oferecem um grande potencial de risco comunitário e por isso as normas de prevenção de acidentes têm de ser eficientes,

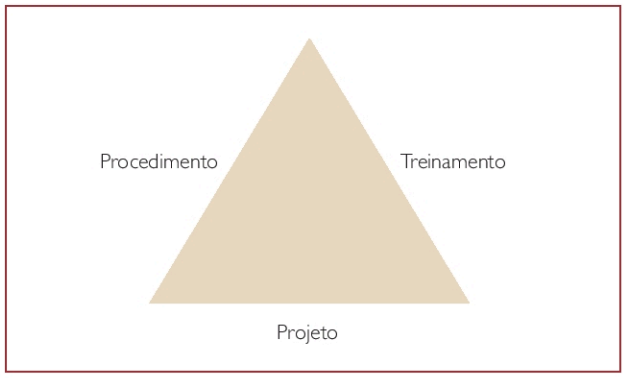


Figura 7. Triângulo do sistema de integração de plantas industriais.

tanto nas fases de pré-produção, passando pela fabricação, acondicionamento, armazenamento, limpeza de equipamentos e área de trabalho, e tratamento de resíduos e descartes. É importante mencionar a influência do fator de mudança de escala no manejo de materiais biológicos.

No trabalho de laboratório, o risco é em grande parte de natureza individual, mas o mesmo agente manejado em maior escala pode levar a uma situação de risco comunitário. Dessa maneira, ficou estabelecido que no manejo de material biológico em volumes acima de 3,7 litros (um galão americano) a operação passa a ser enquadrada no nível de segurança imediatamente superior. Assim, um procedimento, de laboratório nível 2 passa a ser considerado 3, quando se amplia a escala

Uma definição bem abrangente de segurança que passou a ser aceita dentro das indústrias químico-farmacêuticas é a seguinte: "Segurança é uma postura preventiva ligada à prevenção do patrimônio humano e material de uma comunidade". Aqui o termo "comunidade" mostra que essa definição pode ser estendida a fábricas, hospitais, escolas e outros centros de aglomeração humana.

É relativamente fácil entender que o conceito inicial de segurança tenha surgido ainda sob uma ótica em que os problemas da produção química ficavam confinados à industria e os seus reflexos limitavam-se aos seus funcionários, pelo simples motivo que isso ocorreu no século passado.

Os gases eram eliminados na atmosfera e os efluentes eram jogados fora ou então eliminados segundo a terminologia da época.

As indústrias de vacina e outros produtos imunológicos para uso animal e humano eram considerados seguros, uma vez que seus descartes eram quimio e termossensíveis. Isto foi antes da 1ª Guerra Mundial, quando as primeiras vacinas e soros se tornaram a esperança de a humanidade se livrar das pragas que atingiam também os animais que lhes davam sustento.

A vulnerabilidade desconcertante dos seres humanos aos produtos biológicos e microrganismos que lhes davam origem pode ser examinada por outra ótica hoje, levando em conta os conhecimentos científicos agora disponíveis.

É interessante observar hoje à luz das modernas técnicas de contenção e propagação de doenças e materiais biológicos que em 495 a.C. Tucylides, um historiador grego, ao descrever uma epidemia de cólera em Atenas, apresentou talvez a 1ª regra de biossegurança já registrada, a saber: "Somente aqueles que já tinham adoecido e se salvo da praga é que podiam cuidar dos outros doentes".

Regras de grupos humanos, desde épocas imemoriais, proibindo a ingestão de carne de porco em locais de clima muito quente, apalpar a goela de bovinos antes do abate (sintoma de tuberculose) servem de ilustração de que o espírito de prevenção de moléstias de origem biológica já preocupava o ser humano, desde tempos remotos.

Não podemos esquecer que grande parte dos problemas da humanidade provinha e ainda provém de fungos, bactérias ou vírus que destroem as lavouras e os rebanhos, registrados constantemente pela humanidade em todos os continentes.

Com o aumento do domínio dos fenômenos biológicos, melhores conhecimentos do comportamento dos vírus, bactérias e atualmente do material genético, novos problemas começaram a preocupar a humanidade.

Enquanto, nos tempos de Pasteur, os problemas de produção de soros e vacinas e a eliminação de seus efluentes seguiam a mesma lógica da incipiente indústria química de corantes, quando os problemas industriais não eram considerados de natureza comunitária e sim industrial, e pode-se dizer o mesmo em relação à radioatividade por ocasião dos trabalhos pioneiros de M. Curie, nos tempos atuais está surgindo uma conscientização quanto ao meio ambiente, considerando o ar universal. O mesmo pode ser dito em relação a água e outras riquezas naturais.

Os riscos biológicos atuais

Com o adensamento populacional e a grande movimentação das pessoas, animais, frutas, plantas e outros produtos pelos modernos meios de transporte, ficou muito difícil controlar uma contaminação biológica. Não é possível fazer as antigas quarentenas nos portos dos imigrantes. Em função disso, a propagação de uma gripe hoje é extremamente rápida, bem como outras viroses como ebola, HIV, hantavírus etc.

Em geral, a conscientização dos riscos se dá de maneira drástica, e a criação de agências nacionais e internacionais de controle ocorreu de maneira lenta, em geral precedida de organizações não governamentais (ONG). A Organização Mundial da Saúde (OMS), por exemplo, só surgiu após a 2ª Guerra Mundial e demorou a regulamentar os risco químicos. O FDA só ganhou força política nos EUA após o acidente da talidomida na década de 1960.

As agências reguladoras sobre o uso e manejo da energia nuclear e proteção radiológica só tomaram forma após o lançamento das bombas de Hiroshima e Nagasaki.

Quanto à área biológica, os países desenvolvidos se vêem ameaçados por guerras biológicas, propagação de doenças de outros países, além dos possíveis riscos dos alimentos transgênicos e clonagens. É importante lembrar que um dos mais importantes centros atuais de

referência de proteção biológica, o USAMRIID (United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases), se destinava à pesquisa de armas biológicas até 1969, quando essas atividades foram proibidas pelo presidente Richard Nixon, e a partir dessa data essa instituição passou a dedicar-se ao estudo de biossegurança e à produção de vacinas para proteção de soldados e traçar estratégias para proteção da população civil inicialmente nos casos de antraz, botulismo, tularemia e ultimamente ebola. Cumpre aqui analisar um quadro comparativo dos riscos químicos, radiológicos e biológicos (Quadro 1).

Observando o quadro, verificamos que o material biológico apresenta uma propriedade muito diferenciada quando comparado aos outros tipos de contaminação. Enquanto as contaminações químicas e radiológicas se diluem quando espalhadas, a contaminação biológica pode-se reproduzir conforme o meio.

Se uma pessoa ou animal contaminados quimicamente se deslocarem por diferentes lugares, a contaminação vai-se diluindo e tendendo ao zero.

No caso de a contaminação do homem ou animal ser de natureza biológica, os pontos de contaminação nem sempre se diluirão, pelo contrário, poderão gerar multiplicação do material e é exatamente dessa maneira que se dão as epidemias que acometem os seres humanos, animais domésticos e mesmo silvestres.

Desequilíbrios ambientais com alteração de temperatura, umidade e outros elementos poderão desencadear o desenvolvimento de uma espécie biológica em escala imprevisível.

Com o advento da clonagem e da produção de espécies vegetais e animais transgênicos, tornou-se importante desenvolver metodologias quanto ao seu uso, controle e descarte em vários tipos de instituição, particularmente aquelas envolvidas na área de produção de produtos imunobiológicos que são os soros e vacinas para uso humano e animal.

Natureza das indústrias de soros e vacinas

Os aspectos de biossegurança em indústria de produtos imunobiológicos têm características diferentes daquelas dos laboratórios que preparam os inóculos, isolam toxinas e exercem outras atividades relacionadas.

Um dos principais elementos é o fato de que suas atividades são contínuas e em grande escala, prosseguindo noite adentro, pois os processos de culturas de células com inóculos virais e as etapas de purificação e concentração são em geral muito longos e não admitem interrupção do processo a não ser em pontos de corte preestabelecidos.

Em razão desses fatos, a constante troca de funcionários durante turnos, associadas ao fato que a supervisão noturna é normalmente prejudicada, torna a indústria vulnerável a acidentes, uma vez que o trabalho noturno quase sempre tem repercussão negativa no ser humano.

Produção de soros

Soros homólogos: são os soros obtidos de pacientes portadores de alguma imunoglobina de interesse. Neste caso, a OMS recomenda que se faça um *pool* de mil doadores para posterior beneficiamento, análise e acondicionamento.

Essas instalações, em geral, baseiam-se em assepsia simples de produção e descarte, uma vez que o agente patogênico originário já está extinto ou inexistente (por exemplo, gamaglobulina hiperimune). O material segue como descarte hospitalar, ou seja, autoclavagem do material biológico e descarte. Os equipamentos utilizados, tanques, filtros, mangueiras seguem as normas da assepsia já preestabelecidas em áreas farmacêuticas. O mesmo se dá em relação às instalações, aos filtros de ar, ao vestuário e aos procedimentos operacionais.

Quadro 1. Características de produtos que oferecem risco.

Produto	Tempo de vida ativa do material	Consequências da diluição ou difusão	Resistência fisico-química	Capacidade de detecção
Químico	Definitiva	Diminuição da toxicidade (Técnica de recup.)	Todas as condições provocam rearranjos às vezes úteis	Muito boa e rápida
Radioativo	Meia-vida de frações de segundo a milhares de anos	Diminuição da toxicidade	Não altera a radiação	Muito boa e rápida
Biológico	Curta, porém pode ser muito longa através da sua reprodutibilidade. Pode ficar latente muito tempo e se desenvolver com alguma mudança das condições locais	Aumento da contaminação. É o único reprodutível, pode propagar-se	Muito baixa	Difícil e lenta quanto à especificidade

Soros heterólogos: aqui os procedimentos após o recebimento do material dos doadores são iguais aos dos soros homólogos. No entanto, a fase anterior é bastante mais complicada, pois envolve atividades de preparo fora da área de produção.

Produção de vacinas em ovos embrionados

Essa técnica consiste em inocular material viral em embriões de galinhas localizados no interior dos ovos SPF (isento de patógenos específicos), ovos fertilizados que provêm de criações especializadas que têm suas próprias normas de biossegurança. Várias são as vacinas aí produzidas, inclusive as contra gripe. Após inoculação o material é processado e a carga viral, mediante sucessivos procedimentos, é transformada em vacina.

Os procedimentos de biossegurança empregados nesses casos são distintos, uma vez que podem ser cultivados dessa maneira vírus inofensivos, e outras vezes vírus extremamente patogênicos. Neste caso todo o material de cultura, descartes e outros materiais utilizados no processo são incinerados quando possível. Quando os vírus cultivados não são perigosos, a autoclavagem dos descartes por 30 minutos seguidas de adição de hipoclorito de sódio e descanso por três horas é satisfatória.

Produção de vacinas em fetos de roedores

Procedimento comum em vacinas anti-rábicas, consiste em inocular fetos de ratos, especialmente cultivados com cepas de vírus escolhidos para posterior abate dos animais em um prazo inferior a 96 horas. Nesse caso, quando possível, os descartes devem ser incinerados por tratar-se de vírus extremamente perigoso, embora se possa usar a autoclavagem.

Produção de vacinas em culturas de células

A produção de vacinas por meio do inóculo de vírus em cultura de células já é antiga e era utilizado um meio sólido com o emprego de frascos de Roux. O grande desenvolvimento conseguido nestes últimos anos produzindo vacinas em culturas celulares líquidas com suporte sólido ou não, dentro de fermentadores tornou esta técnica corriqueira em grandes indústrias.

Com células especiais (de rim de hamster ou de macaco Vero) estas técnicas permitem a proliferação de vários tipos de vírus e uma saída dos vírus para o meio de cultura sem destruir a célula. Assim, o isolamento dos vírus para processamento se torna muito mais fácil e eficiente. O critério adotado para o descarte dos meios de cultura é o mesmo já descrito para a produção em ovos embrionados ou em fetos de roedores.

Produção de vacinas de DNA

São vacinas obtidas em meios de culturas de células modificadas ou não, cujos fragmentos atuam como antígeno. O processamento segue os mesmos critérios empregados em vacinas feitas por outras vias já descritas, porém o trabalho feito com o material de inóculo segue as normas empregadas nas áreas de produção de microrganismos transgênicos descritos neste livro.

Como a produção e a conservação de material biológico estão bem descritas aqui, bem como as instalações de segurança biológica, níveis 1, 2, 3 e 4, abordaremos exclusivamente a área produtora de unidades que produzem soros e vacinas.

Como já comentado, a purificação de soros homólogos e heterólogos é exatamente igual; a diferença reside no fato de que os soros heterólogos exigem a produção de antígenos em local separado, e o mesmo pode ser dito quanto à seleção de cepas de vírus e bactérias feita em instalações de vários níveis de segurança descritos neste livro.

Uma unidade destinada à produção de soros e vacinas deve atender aos seguintes requisitos:

1. Localização: deve ser um local relativamente mais alto do que as eventuais instalações ao redor para ficar livre de quaisquer inundações e para que transbordos e refluxos nunca caiam em rios e lençóis freáticos. É importante que o local seja pouco sujeito a ventos e distante de habitações. Deve ter grande área livre em volta para possibilitar isolamentos em casos de acidentes.
2. Fonte confiável de energia, disponibilidade de água em abundância e boas condições para descarte de águas tratadas.

O fornecimento de energia é um elemento de segurança, pois além de evitar a perda de produção é responsável pelo funcionamento de todas as válvulas, bombas de transferência, fechamento de portas, alarmes, refrigeração e tratamento de água, exaustão, enfim todos os elementos indispensáveis para o funcionamento normal e seguro da unidade de produção.

PARTE HIDRÁULICA

Atualmente a água empregada nas indústrias é aquela tratada por osmose reversa, e sua finalidade é a de ser o fluido dos meios de cultura, agente de diluição, lavagem dos componentes e enxágue dos equipamentos.

A água usada na limpeza geral é tratada por resina de troca iônica adicionada de elementos químicos específicos como hipoclorito, detergente, quaternários de amônio e detergentes sulfaltados. Sabões adicionados de

lipase e protease também são bastante empregados, pois são bacteriostáticos ou mesmo bactericidas dependendo do tempo e da concentração.

As tubulações devem ser em aço inox 316 e 316 L com polimento sanitário, e a parte vitrificada em boro silicato. O mesmo critério é aplicado para válvulas e juntas na unidade. A finalidade dessa exigência é proporcionar esterilização por vapor aquecido seguida de sanitização complementar. O material descartável é destruído depois da autoclavagem e as mangueiras de silicone são lavadas com aditivos químicos, como detergentes catiônicos, aniônicos ou mesmo sabões acrescidos de enzimas.

EXAUSTÃO

A área de produção tem pressão negativa para evitar escape de qualquer material para fora. Usam-se filtros do tipo HEPA em circuito fechado, passagem do ar por luz UV e descarte do ar por filtros contra espelho de água com anti-sépticos. É importante que o ar seja aspirado para dentro do sistema com velocidade ligeiramente menor que a entrada para conservar a pressão negativa.

Instalações elétricas

As instalações elétricas dentro de unidades com pressão negativa são feitas de acordo com as normas até o ponto de tomada. Neste local é feito um isolamento para evitar qualquer passagem de ar pelos conduites dos fios.

Aspectos complementares das unidades de produção de imunobiológicos

Conceitualmente uma unidade de produção de imunobiológicos deve contemplar alguns requisitos primordiais: prevenir os produtos de contaminação externa e acima de tudo evitar a saída de material contaminante por qualquer via para o meio externo. Portanto, é necessário monitorar e tratar os efluentes bem como todo o material em processamento. A segurança individual dos funcionários deve estar sincronizada com a não-contaminação do local de processamento e também de não levar para fora material contaminado. Para tanto, é comum o uso de antecâmaras com alarmes, chuveiros na entrada e na saída, e escafandros com pressão positiva conforme a necessidade.

Mesmo no caso de microrganismos atenuados, ficou constatado que não se pode descuidar do seu descarte, pois têm sido relatados casos em que tais microrganismos podem voltar à forma virulenta, fato já verificado com o vírus da pólio. Em alguns países já está sendo utilizado para vacinação em massa o vírus morto da pólio, inicialmente empregado por Salk, em substituição à vacina Sabin que utiliza cepas de vírus vivos atenuados.

Esses fatos demonstram que a biossegurança industrial está longe de ser um procedimento totalmente dominado.

BIOSSEGURANÇA DE BACTÉRIAS LÁTICAS

O importante papel das bactérias ácido-láticas (LAB) na fermentação é ilustrado pelas contribuições na acidificação da matéria-prima, como exemplo do leite, produzindo ácido lático como maior produto do metabolismo. Além disso, algumas culturas produzem ácido acético, etanol, aromas (diacetil e acetoína), bacteriocinas, exopolissacarídeos e importantes enzimas (proteases), aumentando assim, a vida-de-prateleira e segurança microbiológica do produto fermentado, melhorando deste modo, a textura e características sensoriais do produto[17].

As indústrias de produtos lácteos foram rapidamente revitalizadas pela introdução de produtos, não somente de alto valor nutritivo e sabor agradável, mas também de produtos que têm capacidade de exercerem efeitos positivos à saúde do consumidor[18]. Com o objetivo de potencializar esses efeitos benéficos, alguns ingredientes não digeríveis (como inulina e lactulose) denominados prebióticos, têm recebido considerável atenção, principalmente por causa de sua habilidade em estimular a crescimento e atividade de bactérias probióticas[19].

Em vista da grande quantidade de biomassa de LAB consumida a cada ano, considerações em relação à biossegurança destas bactérias tomam grande importância. Até recentemente, a biossegurança destes microrganismos não tem sido questionada e relatos de efeitos prejudiciais têm sido muito raros, com exceção de enterococos e estreptococos patogênicos. Casos de infecções, causados por lactobacilos e bifidobactérias, são raros e representam 0,05 a 0,4% dos casos de endocarditis ou bacteremia[20], mas que causaram uma taxa de mortalidade de 25% aproximadamente devido principalmente a ausência de um diagnóstico precoce e tratamento adequado[21]. Muitas bactérias láticas que têm causado infecções em humanos pertencem às espécies de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, mas notou-se que em *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, entre outros, têm também sido associadas a infecções humanas[21,22].

Os antibióticos são importantes instrumentos utilizados pelas indústrias biotecnológicas para combater infecções bacterianas. No entanto, as bactérias são microrganismos altamente adaptáveis e capazes de desenvolver resistência aos antibióticos. Recentemente, as bactérias láticas (LAB) podem atuar como reservatórios de genes de resistência a antibióticos, semelhantes

àquelas encontradas em microrganismos patogênicos. A principal ameaça, associada às bactérias láticas, é que estas podem transferir genes de resistência às bactérias patogênicas. Genes que conferem resistência à tetraciclina, eritromicina e vancomicina foram detectados e caracterizados em *Lactococcus lactis*, enterococos e, recentemente, em espécies de *Lactobacillus* isoladas de carnes e produtos lácteos fermentados[23]. Em bactérias láticas, isoladas de infecções humanas, espécies de *Enterococcus* são particularmente conhecidas por apresentar múltiplas resistências a antibióticos, como cefalosporinas, β-lactâmicos, sulfonamidas, clindamicinas e aminoglicosideos e glicopeptideos, tais como vancomicinas[24].

É importante frisar que uma série de iniciativas tem sido recentemente lançada por várias organizações em todo o mundo para resolver os problemas de biossegurança relativos a bactérias láticas e até mesmo probióticas.

CONCLUSÕES

Desde o surgimento da indústria biotecnológica e de organismos geneticamente manipulados, uma das maiores preocupações da indústria biotecnológica tem sido a biossegurança. Porém, a maior parte da atenção tem sido direcionada para os organismos, e não para os processos, uma vez que há disponíveis diversos manuais com normas para manipulação segura e contenção de organismos geneticamente modificados. A fermentação é, em geral, apenas uma das etapas do processo biotecnológico. Como ela não opera sob elevadas pressões, rotações e temperaturas, uma análise criteriosa de seu projeto de construção e de instalação irá evitar problemas futuros com a biossegurança na indústria. No entanto, o mesmo não pode ser dito das operações envolvidas no processo de recuperação e purificação de bioprodutos. Por isso, os cuidados com a seleção, aquisição, instalação, operação e controle dos equipamentos envolvidos nessa etapa do processo e treinamentos de práticas biológicas biosseguras têm de ser redobrados. Portanto, é fundamental formular normas e padrões rigorosos de trabalho para que desta forma, sejam evitados eventos de bioterrorismo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee SB, Ryan LJ. Occupational health and safety in the biotechnology industry – a survey of practicing professionals. American Industrial Hygiene Association Journal. 1996;57:381-6, .
2. Sengun IY, Karabiyikli S. Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control. 2011;22:647-56.
3. Badel S, Bernardi T, Michaud P. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. Biotechnology Advances. 2011;29:54-66.
4. Abatzoglou N, Boivin S. A review of biogas purification processes. Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 2009; 3:42-71.
5. Hambleton P, Melling J, Salusbury. Biosafety in industrial biotechnology. Londres: Chapman & Hall; 1994.
6. Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1996.
7. McGarrity G J, Hoerner CL. Biological safety in the biotechnology industries. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D. Laboratory safety. Principles and practices. Washington: ASM Press; 1995.
8. Gaudioso J, Gribble LA, Salerno RM. Biosecurity: Progress and Challenges. In: Journal of the Association for Laboratory Automation. 2009; 14:141-47.
9. Fleming DO, Hunt DL. Biological safety: principles and practices. 3rd ed., Washington: ASM Press; 2000.
10. Miller SR, Bergmann D. Biocontainment design considerations for biopharmaceutical facilities. Journal of Industrial Microbiology. 1993; 11:223-34.
11. Dulley RD. Biossegurança: muito além da biotecnologia. Revista de Economia Agrícola. 2007;54(2):27-41.
12. National Institute Of Health (NIH). Recombinant DNA Research: Actions Under the Guidelines; Notice. Federal Register Part III, vol. 56, n. 138, pp. 33174-183. Julho de 1991.
13. Lovatt A. Applications of quantitative PCR in the biosafety and genetic stability assessment of biotechnology products. Reviews in Molecular Biotechnology. 2002;82:279-300.
14. Knutsson R, Van Rotterdam B, Fach P, De Medici D, Fricker M, Löfström C, et al. Accidental and deliberate microbiological contamination in the feed and food Chains - How biotraceability may improve the response to bioterrorism. International Journal of Food Microbiology. 2010.
15. Heinsohn PA, Jacobs RR, Concoby BA. Biosafety reference manual. Fairfax: AIHA Publications; 2000.
16. Pessoa-Jr. A, Vitolo M. Evaluation of cross-flow microfiltration membranes using rotary disc-filter. Process Biochemistry. 1998;33(1):39-45.
17. Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bactéria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science & Technology. 2004;15:67-78.
18. Casiraghi MC, Canzi E, Zanchi R, Donati E, Villa L. Effects of a synbiotic milk product on human intestinal ecosystem. Journal of Applied Microbiology. 2007;103:499-506.
19. Oliveira RPS, Florence ACR, Perego P, Oliveira MN, Converti A. Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk. International Journal of Food Microbiology. 2011;145:22-7.
20. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeier J, Vaara M, Valtonen V. Safety of probiotics that contain Lactobacilli or Bifidobacteria. Clinical Infectious Diseases. 2003;36:775-80.
21. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH. Pathogenic relevance of Lactobacillus: A retrospective review of over 200 cases. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2005;v24:31-40.
22. Franz CMAP, Holzapfel WH. The genus *Enterococcus*: Biotechnological and safety issues. In: Salminen S, von

Wright A, Ouwehand A (eds.). The Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, 3rd ed., 199-247. New York: Marcel Dekker, 2004.
23. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. International Journal of Food Microbiology. 2005;105:281-95.
24. Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. Clinical Infectious Diseases. 1997;24:S80-S84, 1997.
25. Ammor MS, Florez AB, Mayo B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifido-bacteria. Food Microbiology. 2007;24:559-70.
26. Biedenbach DJ, Farrell DJ, Mendes RE, Ross JE, Jones RN. Stability of linezolid activity in an era of mobile oxazolidinone resistance determinants: results from the 2009 Zyvox® Annual Appraisal of Potency and Spectrum program. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2010;68:459-67.
27. Brains W. Biotechnology from A to Z. Oxford: Oxford University Press; 1994.
28. Brasil. Lei de Biossegurança 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituiçao Federal, estabelece normas de seguranòa e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o conselho nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 24/03/2005.
29. Eaton TJ, Gasson MJ. Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. Applied and Environmental Microbiology. 2001;67:1628-35.
30. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Canada; 2002.
31. Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. Enterococci in foods – A Conundrum for food safety. International Journal of Food Microbiology. 2003;88:105-22.
32. Kleerebezem M, Boekhorst J, Van Kranenburg R, Molenaar D, Kuipers OP, Leer R, et al. Complete genome sequence of Lactobacillus plantarum WCFS 1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003;100:1990-5.
33. Marteau P. Safety aspect of probiotic products. Scandinavian Journal of Nutrition. 2001;45:22-4.
34. Metchnikoff II. The prolongation of life: optimistic studies, (reprinted edition 1907). New York: Springer;2004.
35. Nannini E, Murray BE, Arias CA. Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Current Opinion in Pharmacology. 2010;10:516-21.
36. Organization for Economic Co-operation and Development: Recombinant RNA Safety Considerations. Paris: Organization for Economic Co-operation and Development, 1986.
37. Polakiewicz B. Tecnologia de soros e vacinas, 2.ed.;1999.
38. Pridmore DR, Berger B, Desiere F, Vilanova D, Barretto C, Pittet AC, et al. The genome sequence of the probiotic intestinal bacterium *Lactobacillus johnsonii* NCC 533. Microbiology. 2004;101:2512-7.
39. SHAH NP. Functional cultures and health benefits. International Dairy Journal. 2007;17:1262-77.
40. Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J. Indentification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. International Journal of Food Microbiology. 200;81:1-10.
41. U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Health: Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules (NIH Guidelines). Bethesda, Md.: National Institute of Health; 1994.
42. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Nova York: VCH Publishers; 1996.
43. Vasiljevic T, Shah NP. Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. International Dairy Journal. 2008;18:714-28.
44. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. 3.ed. Geneva: WHO; 2004.

capítulo 14

Ações de biossegurança no contexto da gestão da qualidade

Alfredo Tenuta Filho
Luciene Fagundes Lauer Macedo

INTRODUÇÃO

Biossegurança é a ciência voltada para o controle e minimização de riscos advindos da prática de diferentes tecnologias, tanto em laboratório quanto aplicadas ao meio ambiente. O fundamento básico da biossegurança é assegurar o avanço dos processos tecnológicos e proteger a saúde humana, animal e o meio ambiente[1].

É possível e desejável, por estarem explícita ou implicitamente insertas, considerar ações de biossegurança no contexto da gestão da qualidade, cuja finalidade é garantir que atividades, produtos e serviços gerados numa organização tenham a adequação esperada. Com isso, o resultado certamente será o do desempenho da biossegurança com maior competência e melhor qualidade. Há na literatura abordagens que envolvem a biossegurança em relação à qualidade[2-5], dando motivação para que o assunto seja mais objetiva e amplamente discutido.

Para que metas e objetivos da biossegurança possam, então, ser mais apropriadamente atingidos, considera-se ideal e necessário que exista um programa de qualidade adequado já implantado, em implantação ou em via de implantação. Em situações em que a implantação formal não está cogitada, princípios que regem programas de qualidade devem ao menos ser aproveitados, como base e benefício para o cumprimento de metas e objetivos da biossegurança.

Os vários programas da qualidade existentes têm graus diferentes de complexidade de implantação. A implantação desses programas, qualquer que seja o ramo de atividade da organização, tem como base a educação, o treinamento, a motivação e o engajamento deliberado consequente de todas as pessoas envolvidas, em todos os níveis hierárquicos, a começar pelo mais alto mandatário. A matéria-prima mais importante é a humana.

A Qualidade Total, principalmente, o Programa Ambiental 5S e o HACCP – *Hazard Analysis Critical Control Point* (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) – são programas perfeitamente aplicáveis em questões de biossegurança. Os conceitos da Qualidade Total são de maior amplitude e complexidade e, portanto, de implantação mais demorada que os demais programas. Com o mesmo objetivo, aliam-se aos programas citados as Boas Práticas de Laboratórios (BPL) e as de Fabricação (BPF), além das Normas ABNT NBR ISO 9001:2008[6] e 14001:2004[7], em relação às quais as organizações tanto privadas como governamentais podem-se certificar. Quanto aos citados programas e normas, ainda estão associadas práticas voltadas à manutenção e à melhoria contínua da qualidade, representadas por procedimentos que compõem as Ferramentas da Qualidade e pelo Método de Solução de Problemas.

QUALIDADE TOTAL

Evolução da qualidade

O controle da qualidade era exercido, antigamente, somente em relação ao produto acabado. Havia apenas uma inspeção ou fiscalização final que, na concepção

atual, é de resultado insatisfatório. Depois, houve a evolução para o Controle Estatístico de Processo – cuja ênfase era a segurança e o "zero defeito" –, em seguida, para a Garantia da Qualidade – baseada em normas e procedimentos formais – e, finalmente, para a Qualidade Total – que contempla a satisfação dos clientes e a competitividade[8].

Qualidade Total é o conceito expresso em princípios pelos quais uma organização pode sobreviver e desenvolver-se em um ambiente competitivo.

Origem da Qualidade Total

Foi no Japão que ocorreu a Revolução da Qualidade Total, após a Segunda Guerra Mundial. Isso se deu a partir de conceitos da qualidade originados nos Estados Unidos, propiciado pelo fato de que a economia japonesa, na época, estando seriamente afetada pela guerra, necessitou do apoio norte-americano para seu reerguimento. Esse auxílio envolveu o envio de pessoal técnico ao Japão. Edwards W. Deming, que veio posteriormente a consagrar-se como especialista de renome internacional, tornou-se figura central no convencimento do empresariado japonês em relação à importância dos conceitos propostos que visavam à melhoria da qualidade nas empresas. Depois, então, de ter sido aperfeiçoado no Japão, o movimento pela Qualidade Total atingiu os Estados Unidos e países da Europa[9].

Gestão pela Qualidade Total

A Qualidade Total tem complexidade de implantação muito maior que a de outros programas da qualidade, como o 5S por exemplo, mas isso não impede que possa ser implantada em qualquer situação, independentemente do tamanho da organização – micro, pequena, média ou grande.

A Qualidade Total é um sistema gerencial para atender principalmente à sobrevivência e à prosperidade da organização, mediante a satisfação das necessidades das pessoas. Como pessoas devem ser entendidos os clientes, os acionistas, o governo e a sociedade como um todo. Essa gestão da qualidade se faz em todos os processos, por meio de ações científicas sistemáticas desenvolvidas por toda a organização. A tendência atual é que as organizações – micros, pequenas, médias ou grandes – adotem a Qualidade Total como filosofia de trabalho, para garantir a qualidade dos produtos e/ou serviços que produzem. As que vierem a ficar à margem desse movimento correm o risco de deixar o mercado por falta de competitividade. A Gestão pela Qualidade Total implica que todos os processos estejam monitorados e sob controle. Essa é a base para que tudo que é produzido não apresente defeito[8,10-12].

Organizações de grande porte foram as que primeiro implantaram a Qualidade Total. Até atingirem um estágio avançado, foram necessários de 5 a 7 anos. No entanto, é mais fácil a implantação numa organização de menor porte, com menos funcionários. Não há, portanto, um tempo determinado de implantação da Qualidade Total. Uma organização de pequeno porte pode ter os benefícios do programa em apenas um ano[9].

A implantação da Qualidade Total é iniciada pela vontade explícita de mudanças da administração da organização visando a melhorias. Os fundamentos do programa devem ser introduzidos de forma orientada, tendo as pessoas – administradores e funcionários – como alvo, vindo depois a fase de treinamento.

É possível avaliar o estágio em que determinada organização se encontra em relação à qualidade e, com isso, indicar o caminho da obtenção da Qualidade Total. Desse modo está na hora de mudanças e busca de melhorias na qualidade do que está sendo produzido quando:

a. Os clientes não estão sendo ouvidos, por não ser dada importância a isso;
b. Não há estímulo ao trabalho em equipe; a solução de problemas e a tomada de decisões são de competência exclusiva de chefias;
c. Os recursos humanos não são valorizados e as necessidades das pessoas em termos da manifestação de suas opiniões não são satisfeitas;
d. Faltam objetivos claros e isso resulta em esforços dispersos e ações descontínuas;
e. Em virtude de estar dando certo, não há aperfeiçoamento contínuo;
f. Cada setor atua isolado dos demais, não fazendo parte do processo que compõe o todo;
g. A decisão é centralizada e falta autonomia para as pessoas;
h. Os objetivos da organização não são informados e disseminados internamente e, por isso, cada pessoa conhece só aquilo com que trabalha;
i. Não há padronização e documentação dos processos;
j. Os erros gerados nos processos e transferidos para os produtos e/ou serviços são apontados principalmente pelo consumidor final[8].

Princípios da gestão pela Qualidade Total

A satisfação total dos clientes, a gerência participativa, o desenvolvimento de recursos humanos, a constância de propósitos, o aperfeiçoamento contínuo, a gerência de processos, a delegação de competência, a disseminação de informações, a garantia da qualidade e a não aceitação de erros são princípios que podem levar uma organização à Qualidade Total[8].

Satisfação total dos clientes

No âmbito da Qualidade Total, os clientes (internos, intermediários e externos) são os mais importantes para a organização, por isso suas necessidades devem ser satisfeitas como prioridade.

Os clientes internos são os funcionários, a quem é passado o trabalho concluído para que possam realizar a próxima operação, servindo a outros clientes internos, até chegar aos clientes externos. Estabelece-se, assim, uma cadeia fornecedor-cliente: quem passa o trabalho concluído para a próxima operação é o fornecedor, sendo o cliente o que recebe o referido trabalho. Os clientes intermediários (distribuidores, assistência técnica etc.) são terceiros que viabilizam a utilização de produtos e serviços produzidos pelos clientes internos no atendimento aos clientes externos. Os clientes externos são os consumidores finais – usam os produtos e os serviços produzidos.

A organização deve estabelecer processo sistemático e permanente de troca de informações e mútuo aprendizado com seus clientes, transformando essa relação em indicadores do grau de satisfação. É preciso, mais do que prever as necessidades, superar plenamente as expectativas dos clientes, porque são eles, na verdade, a razão da existência da organização. A total satisfação dos clientes é a mola mestre da gestão pela Qualidade Total.

Há, na realidade, uma relação de parceria entre organização, clientes internos e clientes externos, em razão da dependência mútua estabelecida, na qual um depende do outro.

Gerência participativa

A organização deve patrocinar a participação, fornecendo as informações necessárias aos funcionários – clientes internos. Como retorno haverá, mediante o compromisso de todos, melhoria nos resultados. O estímulo a ideias novas e à criatividade favorecerá o aperfeiçoamento contínuo e a solução de problemas. A gerência participativa envolve a mobilização de esforços, a atribuição de responsabilidades, a delegação de competências, a motivação, o debate, a capacidade de ouvir sempre os subordinados e as sugestões, compartilhar os objetivos, informar e, principalmente, transformar grupos de pessoas em verdadeiras equipes. A meta é trabalhar em clima de cooperação e incentivo à participação.

Desenvolvimento de Recursos Humanos

Os clientes internos – funcionários – são a matéria-prima mais importante numa organização. Essas pessoas buscam ter espaço e oportunidade para demonstrar aptidões. Visam a participação, crescimento profissional e ter seus esforços reconhecidos. Como consequência, é gerada a expectativa por uma remuneração justa. Com a satisfação dessas necessidades e com as pessoas conhecendo as metas e os objetivos da organização, o potencial de iniciativa e de trabalho se multiplica. O oposto disso são o comodismo e a desmotivação. A meta é o sentimento de orgulho por parte do funcionário em trabalhar nessas condições. A organização, além de aproveitar os conhecimentos preexistentes e as experiências acumuladas dos clientes internos, tem de investir, sobretudo, em educação e treinamento, visando à formação e à capacitação dessas pessoas.

Constância de propósitos

A participação da alta administração da organização em relação ao cumprimento dos princípios da Qualidade Total é da mais elevada importância. É imprescindível haver coerência nas ideias e, principalmente, transparência na execução de projetos. Nesse sentido, o planejamento estratégico é primordial, em que os propósitos estão permanentemente definidos e atualizados com base em planejamento participativo, integrado e baseado em informações concretas, gerando como consequência o comprometimento de todos e a convergência de ações dentro da organização. A constância de propósitos implica, mais que administrar por objetivos, demonstrar que a alta administração tem o compromisso de implantar a qualidade e aumentar a produtividade. Os empregados compartilham dessa visão e orientam suas ações em relação ao que foi traçado para a organização.

Aperfeiçoamento contínuo

Mudanças nas necessidades dos clientes são constantes. Entre outras, o avanço tecnológico é uma das causas, talvez a principal. Isso obriga a organização a um constante aperfeiçoamento, para a garantia de mercado e principalmente como forma de crescimento e desenvolvimento tecnológico almejado. Com isso, é possível atender aos clientes, provendo e superando suas necessidades. É necessário, portanto, que a organização esteja disposta ao questionamento de suas ações, à procura de melhorias nos processos, produtos e serviços, à criatividade e à flexibilidade de atuação, à análise de desempenho em relação às organizações concorrentes, a assumir novos desafios e à capacidade de incorporar novas tecnologias.

Gerência de processos

A organização como um todo é considerada um grande processo destinado ao atendimento das necessi-

dades dos clientes, por meio da produção de produtos e/ou serviços obtidos a partir de insumos recebidos de fornecedores e transformados com recursos humanos e tecnológicos. Esse grande processo se subdivide em outros menos complexos, podendo chegar, inclusive, a tarefas individuais, o que permite melhor controle – quanto menor o processo, mais efetivamente ele será gerenciado. Os processos que compõem o grande processo (organização) se interligam pela cadeia cliente-fornecedor. A partir do cliente externo, os processos se conectam, de tal forma que o anterior é o fornecedor, e o seguinte, o cliente. Cada processo individual é gerenciado por meio de métodos próprios e instrumentos.

Delegação de competência

O relacionamento com os clientes é a missão mais importante da organização. A impossibilidade de a gerência, ou da autoridade maior pela organização, se relacionar diretamente com todos os clientes, em todos os momentos, impõe a delegação de competência, dentro do princípio de que o controle mais adequado é o derivado da responsabilidade atribuída. Delegar competência representa desejavelmente deixar o poder de decisão o mais próximo possível da ação, tendo por base procedimentos e regulamentos escritos. Isso garante agilidade e flexibilidade. Certamente, a transferência de poder e responsabilidade deve ser feita a pessoas informadas sobre as regras que norteiam sua atuação e especificamente treinadas e capacitadas. O poder de decisão é delegado ao responsável pela ação. O atendimento rápido e eficiente ao cliente determina satisfação de suas necessidades.

Disseminação de informações

Para estarem devidamente compromissadas, todas as pessoas envolvidas devem conhecer e entender os propósitos e os planos da organização, sendo, então, fundamental para isso a transparência no fluxo interno de informações. A participação coletiva no estabelecimento dos objetivos é a forma mais adequada para garantir o engajamento de todos com as coisas e as causas da organização, servindo também para que cada pessoa saiba a importância de sua atividade individual. Além disso, é capital que a comunicação atinja os clientes externos efetivos e potenciais, inclusive quanto aos produtos e/ou serviços oferecidos pela organização.

Garantia da qualidade

A garantia da qualidade fundamenta-se no planejamento e na formalização de processos. A formalização de processos estrutura-se na documentação escrita, que, obrigatoriamente, deve ser de fácil acesso e de entendimento pleno, identificando todas as etapas a serem cumpridas. O registro e controle de todas as etapas relativas à garantia conferem maior confiança em relação à qualidade do produto e/ou serviço. O objetivo é assegurar a qualidade uniforme para todos os produtos e/ou serviços, por meio da gerência de processos. As normas escritas são organizadas no Manual da Qualidade, sendo este um documento hábil de referência e de demonstração de capacitação da organização nas relações com os clientes.

Não aceitação de erros

"Zero defeito" é o padrão de desempenho ideal para qualquer organização, fundamento que deve ser incorporado à forma de pensar e agir de todas as pessoas envolvidas, para obter a perfeição no que produzem. A noção do que é estabelecido como "o certo" tem de derivar do acordo entre a organização e os clientes, com a consequente formalização dos processos correspondentes dentro do princípio da garantia da qualidade. A base para a não aceitação de erros ou defeitos está na detecção de desvio (não conformidade) observado no processo, na localização da causa principal do problema, no planejamento e na execução das ações corretivas cabíveis. O custo na prevenção de erros é menor que sua correção. A produção de produtos e/ou serviços com defeitos resume-se no principal e mais grave desperdício que uma organização pode gerar, com resultados imprevisíveis.

PROGRAMA 5S

O Programa 5S foi consolidado no Japão, na década de 1950, sendo considerado a base para a implantação da Qualidade Total e de outros programas da qualidade e produtividade. Como ocorre com outros programas, o 5S é liderado pela alta administração da organização e baseado na educação, no treinamento e na prática em grupo. Não exige grandes conhecimentos teóricos, sendo essencialmente prático e de fácil entendimento. Muda a maneira de pensar e agir das pessoas, melhorando-lhes o comportamento profissional e particular. O 5S tem seu nome vinculado a cinco palavras japonesas iniciadas por S – *seiri, seiton, seisou, seiketsu* e *shitsuke* –, interpretadas como sensos[8,11,13,14]. As interpretações indicadas na literatura com relativa frequência são:

- *Seiri*: senso de utilização, organização, arrumação, seleção e classificação.
- *Seiton*: senso de ordenação, arrumação, organização e sistematização.
- *Seisou*: senso de limpeza e inspeção.

- *Seiketsu*: senso de saúde, higiene, asseio, padronização, conservação e manutenção da prática dos três primeiros S.
- *Shitsuke*: senso de autodisciplina, disciplina, educação, comprometimento, ética e moral.

A terminologia e a interpretação do senso adotado deve ficar a cargo da organização, a qual fará as adaptações necessárias ao seu próprio contexto com base, sobretudo, nas suas necessidades reais. Os cinco sensos em questão constituem um sistema e, por isso, não podem ser considerados isoladamente. Em muitos casos, é difícil fazer uma distinção precisa entre eles. Há casos também em que essa distinção não é rigorosamente necessária[8,11,13,14].

Seiri

A interpretação do *seiri* como senso de utilização, no sentido restrito, corresponde a identificação, classificação e remanejamento dos recursos não úteis ao processo. No sentido amplo, refere-se à eliminação de tarefas desnecessárias, do excesso de burocracia e de todos os desperdícios, incluindo ainda o correto uso dos equipamentos, para aumentar-lhes a vida útil.

Como senso de classificação, o *seiri* pode significar a identificação dos objetos necessários e desnecessários, em relação a cada ambiente de trabalho. Implica separar e deixar apenas os objetos necessários, dando destino adequado aos não necessários. Tudo o que for de uso constante deve ficar perto, e o que for de uso esporádico, longe. Os objetos não necessários, se não puderem ser aproveitados por outros setores da mesma organização, devem ser submetidos ao sucateamento ou ao descarte adequado.

A execução desse senso de classificação promoverá a liberação de espaço físico útil e a eliminação de sobressalentes fora de uso, ferramentas e armários em excesso, dados e documentos ultrapassados, excedente de pessoal para estocar e transportar e de sucatas. Além disso, poderá haver o reaproveitamento de equipamentos e a diminuição de acidentes de trabalho.

O *seiri* pode ainda significar simplesmente a liberação da área, com a identificação de tudo de que a pessoa não precisa em seu dia de trabalho. E isso pode ter efeitos fantásticos, como o da eliminação de papéis inservíveis ou ultrapassados, presentes na área de trabalho atrapalhando as atividades.

Seiton

Seiton, como senso de ordenação, pode dizer respeito à disposição sistemática dos objetos e dados, a uma comunicação visual competente que facilite o acesso rápido a esses objetos e dados, além da facilitação do fluxo das pessoas. A diminuição do cansaço físico, por excessiva movimentação, e a economia de tempo são, entre outras, as vantagens apontadas.

Interpretado como senso de organização, o significado de *seiton* tem sido referido como o da organização como consequência natural de arrumar o que se utiliza, com fácil e rápido acesso ao que foi organizado. Os benefícios da organização realizada seriam a rapidez e a facilidade na busca de documentos e objetos, a diminuição de acidentes e incêndios, a comunicação visual, a prevenção de erro humano, a racionalização do espaço, a redução de estoques, o controle sobre o que cada pessoa usa e a redução de custo.

O *seiton* pode também ser visto objetivamente como a fase de arrumação, em que a proposta é separar tudo o que vai ser usado no momento do que será utilizado de vez em quando e, ainda, do que terá uso muito raro.

A execução do *seiton* implica a prévia execução do *seiri* como parte do sistema; por óbvio, não se efetua o *seiton* para os objetos não necessários.

Seisou

Como senso de limpeza, o *seisou* propõe que cada pessoa limpe sua própria área de trabalho, fazendo-o de forma consciente e conhecendo as vantagens de não sujar. O objetivo é criar um ambiente físico e agradável e mantê-lo. Por extensão, o termo japonês significa ainda a limpeza das falhas humanas que sejam "laváveis", isto é, as não muito graves. A limpeza realizada em equipamentos envolve também o aspecto de sua conservação. A limpeza implica ainda a eliminação de fontes de poluição, que afeta produtos, funcionários e vizinhos da organização.

O *seisou* ainda pode ser interpretado como senso de limpeza e inspeção. Nesse caso, é dada muita ênfase à questão da inspeção durante a limpeza do local, de ferramentas, máquinas, instrumentos etc. Verificação de riscos, falta de óleo, componentes quebrados e descoberta de falhas aparentemente invisíveis são procedimentos realizados em máquinas e instrumentos com o objetivo de inspeção dos mesmos executados paralelamente aos atos de limpeza.

A realização da limpeza/inspeção promove a satisfação dos clientes internos. Há um maior controle sobre as máquinas e equipamentos, pela identificação de problemas latentes, promovendo a redução de desgastes, quebras e paradas de emergência para reparos. Além disso, há eliminação de desperdícios, melhoria na segurança do trabalho e redução de custos.

Seiketsu

Seiketsu, ou senso de saúde, pode ser entendido como relacionado à saúde sob os aspectos físico, mental e emocional. Além de exercer as atividades de melho-

ria contínua do ambiente físico de trabalho, por meio do *seiri*, *seiton* e *seisou*, a pessoa deve estar ciente dos demais aspectos que podem afetar sua própria saúde e, assim, poder agir sobre eles.

A interpretação do *seiketsu* tem sido feita também como senso de conservação, com a preocupação de manter a prática dos três primeiros S – *seiri*, *seiton* e *seisou*. Estão incluídas regras básicas de comportamento social, de tal forma a obter a constância e o rigor na manutenção do 5S por toda a organização.

Shitsuke

Shitsuke pode ser visto como o senso da autodisciplina. A autodisciplina é o estágio atingido quando a pessoa segue os padrões técnicos, éticos e morais da organização, sem a necessidade de estrito controle externo. É o resultado dos esforços de educação e treinamento propostos na implantação do 5S.

Como senso de ética e moral, *shitsuke* significa a utilização efetiva do potencial de cada indivíduo, ter todos os empregados cumprindo naturalmente os procedimentos operacionais, éticos e morais, como um hábito, e a criação de ambiente ideal e de incentivo para que cada pessoa sinta o desafio de se desenvolver. O retorno esperado é o desempenho dos procedimentos operacionais de forma adequada, a constante autoanálise das pessoas e a busca pelo aperfeiçoamento, a conscientização da administração participativa, a obtenção de melhor entrosamento entre funcionários e gerentes, o incentivo à capacidade criativa, além da possibilidade de reavaliação dos valores da organização.

Resultados da Implantação do 5S

A implantação do 5S promove a prevenção de acidentes, a obtenção de ambiente de trabalho agradável, o incentivo à criatividade e ao trabalho em equipe, a melhoria do moral dos empregados, a melhoria da qualidade, o aumento de produtividade, a redução dos custos e do consumo de energia, e a prevenção de paradas de máquinas por quebra. Nesses termos, fica criada a base para a implantação da Qualidade Total.

O 5S é um programa relativamente simples, mas sua manutenção e melhoria ao longo do tempo exigem esforço especial. Os resultados iniciais derivados da implantação e da execução do *seiri*, *seiton* e *seisou* – os três primeiros S – impressionam e, portanto, servem de motivação para a melhoria contínua[14].

Na visão de determinada empresa japonesa, apenas quando os funcionários se sentirem orgulhosos por terem construído um local de trabalho digno e com o compromisso de melhorá-lo continuamente é que a essência do 5S foi de fato compreendida. Na interpretação dada pela referida empresa, o *seiri/seiton* equivalia à pesquisa de eficiência; o *seiton*, à procura do melhor *layout*; o *seisou*, à inspeção e à eliminação da fadiga do equipamento; o *seiketsu*, à eliminação do estresse do funcionário; enquanto o *shitsuke* significava argumentar até o último momento, mas cumprir rigorosamente o que ficou decidido[14].

HAZARD ANALYSIS CRITICAL CONTROL POINT (HACCP)

Os conceitos de praticidade racional, dinamismo e eficiência do HACCP (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) estão incorporados aos propósitos da garantia da qualidade de produtos e serviços. O HACCP é um sistema que identifica perigos específicos, químicos, biológicos ou físicos, e aponta as medidas preventivas cabíveis para o controle destes. Objetiva o controle dos pontos críticos de maior potencialidade, nos quais a qualidade pode ser afetada. O programa age preventivamente em todo o processo. Ponto Crítico de Controle (PCC) é uma etapa ou um procedimento, ou mesmo um ponto de dado processamento, em que um controle pode ser aplicado, servindo para eliminar, prevenir ou reduzir a níveis aceitáveis um perigo[15].

Como em todo programa da qualidade, deve haver a predisposição inequívoca da implantação do HACCP e a correspondente base educacional e de treinamento necessária à capacitação de todas as pessoas envolvidas no processo.

O HACCP tem sido usado no setor de alimentos com sucesso e com uma projeção de importância atual cada vez mais intensa, na medida de sua adoção para o atendimento dos propósitos da qualidade[16]. Historicamente, esse uso tem que ver com as viagens espaciais. Sendo necessária a produção de alimentos em tais condições que não representassem ameaça à saúde dos astronautas, foi adotado o HACCP para esse propósito.

Implantação do HACCP

A existência de normas operacionais básicas é pré-requisito para a implantação do HACCP.

No setor de alimentos, por exemplo, essas normas básicas são representadas pelas Boas práticas de fabricação (BPF), com abrangência bastante ampla. Os princípios gerais das BPF abrangem etapas que vão da matéria-prima ao produto final e o envolvimento com os consumidores da produção havida, passando por questões como controle de processos, manutenção da higiene dos equipamentos e das instalações, higiene pessoal e treinamento de funcionários, além do *layout* e requisitos de construção civil, armazenamento e distribuição[17]. O sucesso da implantação do HACCP é extremamente dependente das BPF bem implantadas.

Por analogia, as Boas Práticas Operacionais, como as propostas para laboratórios com atividades químicas, microbiológicas, biotecnológicas, de biologia molecular etc.[3-4,18-23], em que a biossegurança é fator essencial, seriam pré-requisitos para a implantação do HACCP nos setores correspondentes.

A necessidade e a oportunidade de implantação do HACCP decorrem do fato de que tanto as BPF como as BPL adotadas, mencionadas anteriormente, não são, ou não podem ser, por si sós, suficientes para a garantia da qualidade. Essa constatação ocorre a despeito de todo o cuidado que as referidas normas encerram, sobretudo em relação ao treinamento das pessoas.

A tradução de *hazard* para o português corresponde tanto a risco como a perigo, mas, tecnicamente, no contexto do HACCP, são termos diferentes que têm trazido confusão e interpretação errônea. O potencial em causar danos – químicos, biológicos e físicos – é o que significa perigo, enquanto risco é a estimativa da probabilidade de ocorrência de um perigo, que pode ser nula ou desprezível, baixa, moderada e alta, quanto ao nível.

Princípios do HACCP

O HACCP compõe-se de sete princípios[15,24]:

- Identificação dos perigos potenciais associados a todas as etapas do processo como um todo, incluindo a preocupação com os clientes externos (consumidores finais).
- Determinação dos PCC, pontos específicos, procedimentos, etapas do processo etc., que possam ser controlados com vistas à eliminação dos perigos ou mesmo à redução da possibilidade de sua ocorrência.
- Estabelecimento dos limites críticos, que definem a separação entre o que é aceitável e o que não é, que garantam que os PCCs permaneçam controlados.
- Instituição de sistema de monitoramento visando controlar cada PCC.
- Estabelecimento de medidas corretivas a serem tomadas quando um PCC estiver fora do controle necessário.
- Determinação de procedimentos de verificação destinados à avaliação do funcionamento adequado do HACCP.
- Estabelecimento de sistema de registros e documentação, necessário ao funcionamento dos princípios e conceitos do HACCP.

Benefícios da implantação do HACCP

O HACCP permite a aplicação de medidas corretivas no processo sempre que for necessário. Sua racionalidade facilita sua compreensão e entendimento por parte de todas as pessoas envolvidas, incluindo os próprios consumidores finais (clientes externos).

Por suas características, o HACCP pode ser associado à Norma ABNT NBR ISO 9001:2008[6], no atendimento de requisitos importantes exigidos pela referida norma de gestão e garantia da qualidade, notadamente quanto ao controle de processo.

NORMAS ABNT NBR ISO 9001:2008[6] E 14001:2004[7]

Norma ABNT NBR ISO 9001:2008[6] – Sistemas de gestão da qualidade – Requisitos

A Norma recomenda que a adoção de um sistema de gestão da qualidade seja uma decisão estratégica de uma organização. Tanto o projeto como a implementação desse sistema adotado são influenciados pelos objetivos, produtos fornecidos, processos utilizados, porte e estrutura da organização, entre outros fatores. Esta Norma pode ser usada por partes internas e externas, incluindo organismos de certificação, para avaliar a capacidade da organização em atender aos requisitos do cliente, os estatutários e os regulamentares, aplicáveis ao produto e aos seus requisitos.

A Norma em apreço adota a abordagem de processo para o desenvolvimento, implementação e melhoria da eficácia de um sistema de gestão da qualidade para aumentar a satisfação do cliente, pelo atendimento aos seus requisitos. Para um funcionamento eficaz, a organização tem que determinar e gerenciar diversas atividades interligadas. Uma atividade ou um conjunto de atividades que usa recursos e que é gerenciada de forma a possibilitar a transformação de entradas em saídas pode ser considerada um processo, no qual a saída de um processo com frequência é a entrada para o processo seguinte. A aplicação de um sistema de processos numa organização, junto com a identificação, as interações desses processos e sua gestão para produzir o resultado desejado, pode ser referenciada como a abordagem de processo. A abordagem de processo tem como uma de suas vantagens o controle contínuo sobre a ligação entre os processos individuais dentro do sistema de processos, sua combinação e interação.

Usada em um sistema de gestão da qualidade, a abordagem de processo enfatiza: (a) o conhecimento e atendimento dos requisitos; (b) a necessidade de considerar os processos em termos de valor agregado; (c) a obtenção de resultados de desempenho e eficácia de processo; e (d) a melhoria contínua de processos baseada em medições objetivas.

A Norma ABNT NBR ISO 9001:2008[6] apresenta o modelo de um sistema de gestão da qualidade, baseado em uma abordagem de processo, ilustrando as ligações

dos processos, contidos nas Seções 4 a 8, a saber: 4 – Sistema de gestão da qualidade; 5 – Responsabilidade da direção; 6 – Gestão de recursos; 7 – Realização do produto; 8 – Medição, análise e melhoria. É colocado em evidência que os clientes desempenham um papel fundamental na definição dos requisitos como entradas. Além disso, fica patente que o monitoramento da satisfação do cliente requer a avaliação de informações relativas à percepção do cliente sobre se a organização atendeu aos requisitos do cliente.

Adicionalmente, pode ser aplicado o PDCA – metodologia conhecida como *Plan, Do, Check* e *Act* – em todos os processos, com o respectivo significado de planejar, fazer, checar e agir. *Planejar*, neste contexto, significa estabelecer os objetivos e processos necessários para gerar resultados de acordo com os requisitos do cliente e com a política da organização; *fazer* é a fase de implementação dos processos; *checar* envolve monitorar e medir processos e produtos em relação às políticas, aos objetivos e aos requisitos para o produto e relatar os resultados; e *agir* significa executar ações para promover continuadamente a melhoria do desempenho do processo.

A Norma ABNT NBR ISO 9001:2008[6] dá os requisitos para um sistema de gestão da qualidade, quando uma organização: (a) necessita demonstrar sua capacidade em fornecer produtos que atendam, de forma consistente, aos requisitos do cliente, requisitos estatutários e requisitos regulamentares aplicáveis; (b) pretende aumentar a satisfação do cliente por meio da aplicação eficaz do sistema, incluindo processos para melhoria contínua do sistema, e assegurar a conformidade com os requisitos do cliente e os requisitos estatutários e regulamentares aplicáveis.

Norma ABNT NBR ISO 14001:2004[7] – Sistemas da gestão ambiental – Requisitos com orientações para uso

Ter e demonstrar desempenho ambiental correto, pelo controle dos impactos de suas atividades, produtos e serviços, sobre o meio ambiente, é uma preocupação demonstrada por organizações de todos os tipos. As normas de gestão ambiental têm como objetivo dar às organizações os elementos de um sistema da gestão ambiental (SGA) que possam ser integrados a outros requisitos da gestão, ajudando-as a alcançarem seus objetivos ambientais e econômicos.

A Norma ABNT NBR ISO 14001:2004[7] fornece os requisitos para que um sistema da gestão ambiental capacite uma organização a desenvolver e implementar uma política e objetivos que levem em conta requisitos legais e outros requisitos por ela subscritos, e informações sobre os aspectos ambientais significativos. Aplica-se aos aspectos ambientais que a organização identifica como aqueles que possa controlar e aqueles que possa influenciar.

O modelo de sistema da gestão ambiental para esta Norma tem por base o PDCA – metodologia conhecida como *Plan, Do, Check* e *Act* –, com o respectivo significado de planejar, executar, verificar e agir. *Planejar*, neste contexto, significa estabelecer os objetivos e processos para obter os resultados coerentes com a política ambiental da organização; *executar* é a fase de implementação dos processos planejados; *verificar* envolve monitorar e medir os processos em conformidade com a política ambiental, objetivos, metas, requisitos legais e outros requisitos, e relatar os resultados; e *agir* significa a ação necessária para, de forma contínua, melhorar o desempenho do sistema da gestão ambiental adotado.

Um sistema como este permite a uma organização desenvolver uma política ambiental, estabelecer objetivos e processos para atingir os comprometimentos da política, agir, conforme necessário, para melhorar seu desempenho e demonstrar a conformidade do sistema com os requisitos dessa Norma, cuja finalidade geral é equilibrar a proteção ambiental e a prevenção de poluição com as necessidades socioeconômicas.

A Norma ABNT NBR ISO 14001:2004[7] é aplicável a qualquer organização que pretenda: (a) estabelecer, implementar, manter e aprimorar um sistema da gestão ambiental; (b) assegurar-se da conformidade com sua política ambiental definida; e (c) demonstrar conformidade com essa Norma ao fazer uma autoavaliação ou autodeclaração; ou buscar confirmação de sua conformidade por partes que tenham interesse na organização (clientes, por exemplo); ou buscar confirmação de sua autodeclaração por meio de uma organização externa; ou buscar certificação/registro de seu sistema da gestão ambiental por uma organização externa.

Os requisitos do sistema da gestão ambiental propostos na Norma ABNT NBR ISO 14001:2004[7] estruturam-se, na Seção 4, como: 4.1 – Requisitos gerais; 4.2 – Política ambiental; 4.3 – Planejamento; 4.4 – Implementação e operação; 4.5 – Verificação; e, 4.6 – Análise pela administração.

FERRAMENTAS PARA MANUTENÇÃO E MELHORIA CONTÍNUA DA QUALIDADE E MÉTODO DE SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

O diagrama de Pareto, o diagrama de causa e efeito, a estratificação, a folha de verificação, o histograma, o diagrama de dispersão e o gráfico de controle têm sido considerados as ferramentas clássicas da qualidade. Além delas, o fluxograma, o *brainstorming* e os métodos de solução de problemas têm sido usados na manutenção e na melhoria contínua da qualidade. Essas ferramentas

têm como características a relativa simplicidade e a objetividade[8,9,11,12,14,25-27].

Tem sido apontado que, com vistas à qualidade, o ideal (necessário) é fazer certo na primeira vez, e cada vez melhor. Melhoria contínua é fazer melhor a cada vez.

Ao empregar ferramentas para manutenção e melhoria da qualidade, é preciso, no entanto, selecioná-las e usá-las para os fins específicos. É engano imaginar que todas devam ser usadas em relação a todos os problemas. O fluxograma, por exemplo, pode ser útil para identificar problemas. Por outro lado, para selecionar e priorizar os problemas da qualidade, é possível, além do fluxograma, o emprego da folha de verificação e do diagrama de Pareto.

Brainstorming

Literalmente, *brainstorming* significa tempestade cerebral, mas, em termos técnicos, representa "geração de ideias". É uma ferramenta para auxiliar um grupo de pessoas a criar ideias para a solução de problemas específicos. Participam do *brainstorming* 6 a 12 pessoas – lideradas por um coordenador e um secretário –, às quais é informado o motivo do problema a ser estudado. As regras envolvem algumas condições básicas. As ideias formuladas não são criticadas. Sua apresentação é feita sem inibição, de forma simples e sem elaboração. Quanto maior o número, maiores as chances de ocorrerem boas ideias. As ideias potencialmente interessantes são selecionadas, aperfeiçoadas, justificadas e aplicadas visando à melhoria desejada[18,25].

Fluxograma

O fluxograma identifica as etapas/atividades de um processo. O fluxograma de um processo administrativo de atendimento médico é exemplificado na Figura 1. Ele aponta solução para todas as alternativas. Portanto, pode ser utilizado para apontar não conformidades e propor correção cabível, tendo por base uma situação ideal alternativa visando melhorias no processo e, consequentemente, na qualidade do que está sendo produzido[8,9,25] (Figura 1).

Diagrama de Pareto

O diagrama de Pareto é usado para evidenciar a importância relativa entre vários problemas, os quais, por sua vez, devem ser resolvidos prioritariamente a partir de dados obtidos de fontes de coleta, como da folha de verificação[25,26].

Problemas da qualidade aparecem sob a forma de perdas (itens defeituosos e seus custos), sendo fundamental conhecer a forma de sua distribuição. A maioria decorre de poucos tipos de defeito, que podem ser atribuídos a um pequeno número de causas. Se as causas desses poucos defeitos (vitais) forem identificadas, pode-se eliminar quase todas as perdas e concentrar-se sobre as causas principais, pondo de lado, inicialmente, os outros defeitos (muitos e triviais). O diagrama de Pareto tem o mérito de resolver esse tipo de problema[26].

Várias etapas compõem a construção de um diagrama de Pareto, de acordo com a ilustração usada (Figura 2), que contempla um gráfico que envolve itens defeituosos[26]:

- Na etapa inicial, deve ser decidido sobre quais problemas serão investigados e a forma de coleta de dados. Tem de ser selecionado o tipo de problema (por exemplo, itens defeituosos, perdas monetárias, ocorrência de acidentes etc.), os dados necessários e sua classificação (por exemplo, por tipo de defeito, localização, processo, máquina, operador, método etc.), com os itens de menor frequência sendo agrupados em "outros". O método de coleta de dados e o período experimental devem ser determinados.
- Criar uma folha de verificação (Tabela 1), com listagem, contagem, registros e cálculo de dados por tipo de defeito (de acordo com a Figura 2).
- Preparar a planilha de dados para construção do diagrama de Pareto (Tabela 2) por: itens, totais individuais, totais acumulados, porcentagens sobre o total geral e porcentagens acumuladas, tendo por base a Tabela 1. O item "outros" deve ficar na última linha, independentemente de seu valor, porque é um grupo no qual cada item que o compõe é menor que os demais.
- Elaborar o gráfico (Figura 2), traçando dois eixos verticais e um horizontal. No eixo vertical esquerdo, a escala irá de zero até o valor total geral (200), correspondendo à quantidade de itens defeituosos. No eixo vertical direito, a escala irá de 0 a 100%, correspondendo à porcentagem acumulada. O eixo horizontal é dividido em intervalos iguais correspondentes aos itens classificados por tipos de defeito (deformação, risco etc.).
- Construir o diagrama de barras.
- Desenhar a curva de Pareto (curva acumulada), marcando os valores acumulados até cada item (total acumulado ou porcentagem acumulada) sobre o lado direito do respectivo intervalo, e ligando os pontos.
- Completar o diagrama, introduzindo o título correspondente, a quantidade de itens inspecionados, o período experimental e o local.

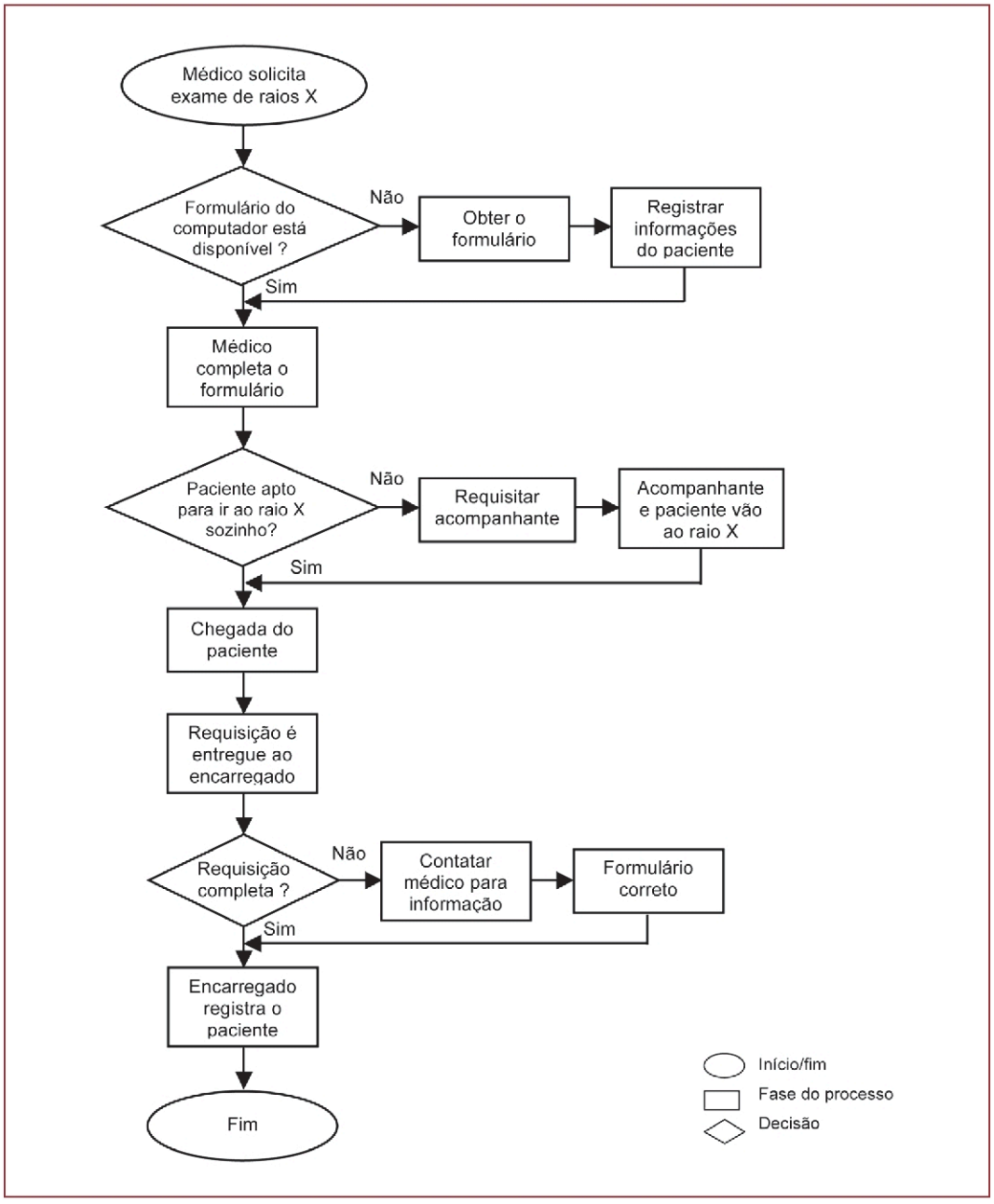


Figura 1. Atendimento médico-administrativo.
Fonte: Brassard (1992)[25].

Tabela 1. Folha de verificação: contagem de dados

Tipo de Defeito	Verificação	Total
Trinca	IIIII IIIII	10
Risco	IIIII IIIII IIIII IIIII ... II	42
Mancha	IIIII I	6
Deformação	IIIII IIIII IIIII IIIII ... IIII	104
Fenda	IIII	4
Porosidade	IIIII IIIII IIIII IIIII	20
Outros	IIIII IIIII IIII	14
Total	-	200

Fonte: adaptada de Kume (1993)[26].

Diagrama de causa e efeito

O resultado de um processo é atribuído a um número muito grande de fatores, entre os quais pode ser encontrada uma relação de causa e efeito, que será útil para medidas corretivas. O diagrama de causa e efeito foi idealizado para chegar à relação entre o "efeito" e todas as possíveis "causas" que o afetam. Esta ferramenta é também denominada diagrama de Ishikawa, seu criador, ou ainda de espinha de peixe, em razão de seu formato (Figura 3), por lembrar a organização óssea de peixes[25,26].

Tabela 2. Planilha de dados para construção do diagrama de Pareto

Tipo de defeito	Quantidade de defeitos	Total acumulado	Total geral (%)	Acumulada (%)
Deformação	104	104	52	52
Risco	42	146	21	73
Porosidade	20	166	10	83
Trinca	10	176	5	88
Mancha	6	182	3	91
Fenda	4	186	2	93
Outros	14	200	7	100
Total	200	-	100	-

Fonte: Kume (1993)[26].

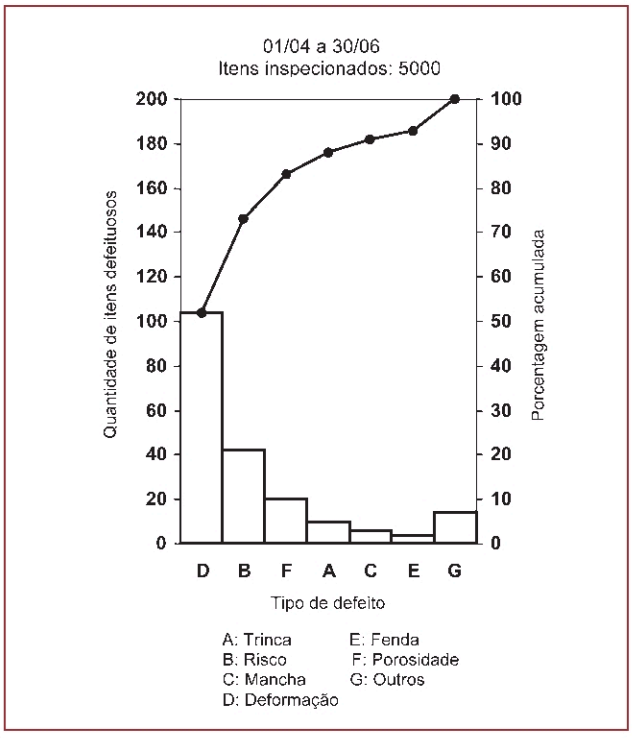


Figura 2. Gráfico de Pareto por itens defeituosos.
Fonte: Kume (1993)[26].

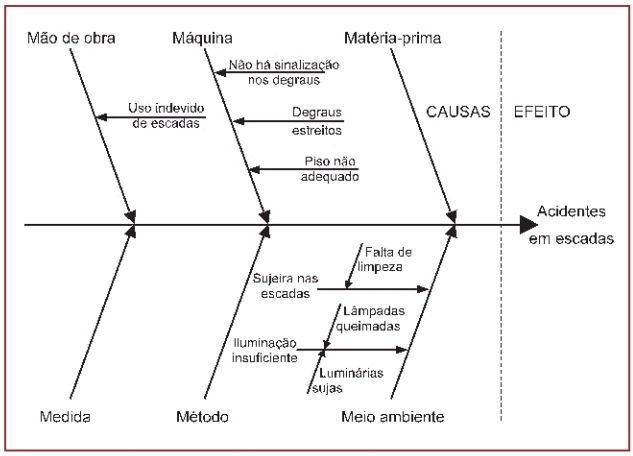


Figura 3. Diagrama de causa e efeito.
Fonte: Silva (1994)[14].

No diagrama, o "efeito" aparece à direita e as "causas" são colocadas à esquerda. Para cada efeito, inúmeras causas podem ser apontadas, em geral agrupadas em categorias denominadas 4M ou 6M, derivadas de mão de obra, máquina etc. (Figura 3), dependendo da área. Concretamente, o número e a denominação dados às categorias usadas, sob as quais as causas estão agrupadas, variam e estarão sempre relacionados com as causas específicas[8,14,25,26].

A construção do diagrama de causa e efeito passa por etapas bem definidas de organização específica[8,25,26]:

- A primeira preocupação é o estabelecimento claro do problema a ser investigado – o efeito – em termos do que seja, onde ocorre, quando ocorre e sua extensão.
- Encontrar com o *brainstorming* o maior número possível de causas que contribuam para o efeito. As informações desvinculadas do problema que surgirem são eliminadas.
- Construção do diagrama, colocando à direita o problema já definido, à esquerda as categorias de causas – mão de obra, máquina etc. – ou quaisquer outras que auxiliem na organização das causas e subcausas correspondentes mais importantes, e transcrevendo as causas e subcausas resultantes do *brainstorming*.
- Identificadas as causas e subcausas mais prováveis, definir as ações corretivas visando eliminar as causas e subcausas, cessando o efeito (problema) mediante um plano de ação.

Estratificação

Estratificação é uma técnica simples e útil para análise de dados, desembaraçando informações e analisan-

do separadamente os fatos. Aplica-se nas situações em que os dados mascaram os fatos reais. Por exemplo, os registros de pequenos acidentes que ocorreram em determinada organização podem estar feitos num gráfico simples, sem que se saiba se eles estão aumentando ou não. Ocorre, no entanto, que o somatório desses acidentes corresponde ao tipo (ferimentos leves, queimaduras etc.), ao local afetado (olho, mãos etc.) e ao local de trabalho ou departamento (manutenção, expedição etc.) (Figura 4). Os dados, então, são estratificados, decompostos em categorias mais significantes, permitindo ação corretiva mais efetiva[25].

Folha de verificação

A folha de verificação é um formulário impresso com itens a serem verificados, que permite que as informações possam ser coletadas fácil e objetivamente. Tem a finalidade também de organizar os dados obtidos simultaneamente à coleta, para uso posterior. A coleta e o registro dos dados são de fácil entendimento, mas requerem capacitação operacional adequada e atenção devida na execução da tarefa[26].

O emprego da folha de verificação costuma ser o ponto de partida na maioria das ações voltadas à solução de problemas. A folha de verificação informa quanto à frequência com que determinado evento ocorre. Sua elaboração obedece a uma série de critérios. Inicialmente, tem de ser estabelecido exatamente o evento a ser avaliado, assim como o período experimental no qual as informações serão obtidas. Por óbvio, o formulário deve ser apropriado e permitir fácil manuseio. A coleta dos dados tem de ser consistente e atenciosa, realizada conforme as instruções do plano de ação previamente estabelecido[25]. Na Tabela 1, consta um exemplo de aplicação da folha de verificação, cujos dados serviram na elaboração e na análise do diagrama de Pareto.

Histograma

Como ferramenta da qualidade, o histograma permite que se conheça a distribuição de dados por gráfico de barras com certo número de unidades por cada categoria. O histograma determina quanto de variação existe em um processo, por meio de medições de dados correspondentes a variáveis de interesse[25,26]. Tipicamente tem a forma ilustrada na Figura 5. A curva mostrada é a normal e tem a forma de sino, superpondo-se ao gráfico de barras.

A curva normal indica que a maioria das medidas feitas concentra-se em torno da medida central. Além disso, as demais distribuem-se igualmente em cada lado da medida central. Várias amostras aleatórias de dados sob controle estatístico seguem o modelo da "curva do sino". Outras formas ocorrem, observando-se um acúmulo de dados em pontos afastados da medida central, conhecidas como "inclinadas". É preciso cuidado para não chegar a curvas (do sino ou inclinada) aparentes. Deve ser visto se a distribuição atende à especificação e, em caso negativo, determinar o quanto a curva está "fora", ou seja, medir a variabilidade[25,26].

As etapas para a construção de um histograma são as que se seguem[25]:

- Para atender ao exemplo adotado, é considerada a tabulação a seguir, cujos dados são correspondentes à medição de espessura de um produto gerado num processo. São 125 valores tabulados (n = 125):

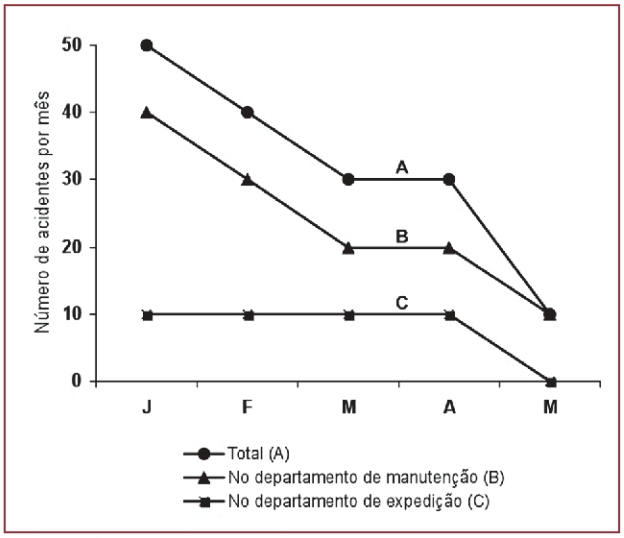


Figura 4. Acidentes registrados numa organização. Fonte: adaptada de Brassard (1992)[25].

9,9	9,3	10,2	9,4	10,1	9,6	9,9	10,1	9,8
9,8	9,8	10,1	9,9	9,7	9,8	9,9	10,0	9,6
9,7	9,4	9,6	10,0	9,8	9,9	10,1	10,4	10,0
10,2	10,1	9,8	10,1	10,3	10,0	10,2	9,8	10,7
9,9	10,7	9,3	10,3	9,9	9,8	10,3	9,5	9,9
9,3	10,2	9,2	9,9	9,7	9,9	9,8	9,5	9,4
9,0	9,5	9,7	9,7	9,8	9,8	9,3	9,6	9,7
10,0	9,7	9,4	9,8	9,4	9,6	10,0	10,3	9,8
9,5	9,7	10,6	9,5	10,1	10,0	9,8	10,1	9,6
9,6	9,4	10,1	9,5	10,1	10,2	9,8	9,5	9,3
10,3	9,6	9,7	9,7	10,1	9,8	9,7	10,0	10,0
9,5	9,5	9,8	9,9	9,2	10,0	10,0	9,7	9,7
9,9	10,4	9,3	9,6	10,2	9,7	9,7	9,7	10,7
9,9	10,2	9,8	9,3	9,6	9,5	9,6	10,7	

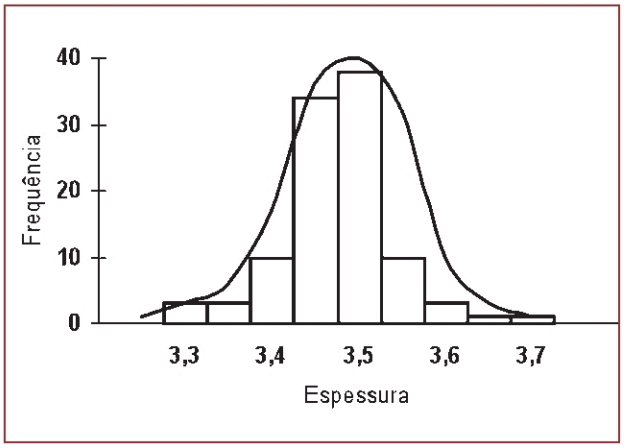


Figura 5. Histograma.
Fonte: Brassard (1992)[25].

- Determinação da amplitude (R): é feita pela subtração do menor valor da tabulação em relação ao maior valor, que, no presente caso, é de 1,7 (10,7 – 9,0 = 1,7).
- Determinação do número de classes (K): é a divisão do valor de amplitude (R) em certo número de classes. Isso fornece indicação aproximada para determinação razoável de K. A partir do número de valores da tabulação (n = 125), abaixo de 50, entre 50 e100, entre 100 e 250 ou acima de 250, aceita-se como K correspondente entre 5 e 7, 6 e 10, 7 e 12, 10 e 20, respectivamente. Os 125 valores tabulados podem, então, ser divididos em 7 a 12 classes; para efeito do exemplo adotado, será usado K = 10.
- Determinação do intervalo de classe (H): é feita segundo a fórmula H = R/K, resultando em H = 1,7/10 = 0,17. Como na maioria dos casos é conveniente arredondar o resultado para o decimal acima, optou-se pelo valor de H = 0,20.
- Determinação do limite da classe ou pontos-limites: toma-se a menor medida tabulada, arredondada para um valor apropriadamente menor, se for o caso, como valor inferior da primeira classe, que, no caso, é 9,00. A esse número é adicionado o valor de intervalo de classe (H = 0,20): 9,00 + 0,20 = 9,20. Chega-se, assim, ao limite inferior da próxima classe, que se iniciará em 9,20. A primeira classe compreenderá 9,00 e acima sem incluir 9,20: 9,00 a 9,19. A segunda classe começará em 9,20 envolvendo valores acima, mas não incluindo 9,40. Consecutivamente, deve-se somar 0,20 (intervalo de classe) a cada limite de classe inferior, até que o número de classes (K) escolhido (10) seja obtido.
- Construção de tabela de frequências (Tabela 3): é feita com base em valores computados no item anterior (por exemplo, número de classes, intervalos de classes, limites de classe).
- Construção do Histograma: é feita com base na tabela de freqüências (Tabela 3). O Histograma em apreço é apresentado na Figura 6.
- Interpretação do Histograma: a importância diagnóstica do Histograma revela-se pela visão geral da variação dada em relação a um conjunto de dados. O número de classes mostra a visibilidade do modelo. Alguns processos são naturalmente inclinados; portanto, a expectativa de curva na forma de sino pode não se concretizar.

Diagrama de dispersão

O diagrama de dispersão tem sido empregado para estudar a possível relação de causa e efeito entre duas variáveis. O diagrama caracteriza a relação e aponta sua intensidade, o que não significa que uma variável afete a outra, ou seja, uma é a causa da outra[25,26]. A compreensão da relação entre as variáveis de interesse depende da

Tabela 3. Tabela de frequências

Classe	Limites de classe	Ponto médio	Frequência	Total
1	9,00-9,19	9,1	I	1
2	9,20-9,39	9,3	IIII IIII	9
3	9,40-9,59	9,5	IIII IIII IIII I	16
4	9,60-9,79	9,7	IIII IIII IIII IIII IIII II	27
5	9,80-9,99	9,9	IIII IIII IIII IIII IIII IIII I	31
6	10,0-10,19	10,1	IIII IIII IIII IIII III	23
7	10,20-10,39	10,3	IIII IIII II	12
8	10,40-10,59	10,5	II	2
9	10,60-10,79	10,7	IIII	4
10	10,80-10,99	10,9		0

Fonte: Brassard (1992)[25].

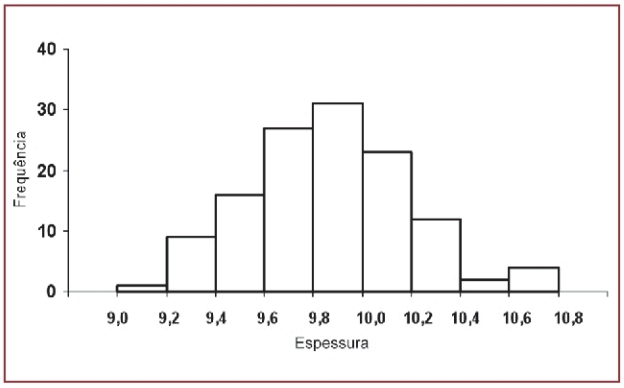


Figura 6. Histograma.
Fonte: Brassard (1992)[25].

construção do referido diagrama, cuja forma caracteriza-se por um eixo horizontal, também chamado de eixo x, e um eixo vertical, ou eixo y, no qual os dados são insertos. Estabelece-se o diagrama por etapas[26]:

- Em número mínimo aconselhável de 30, coletar os dados em pares (x, y), organizando-os em tabela.
- Encontrar os valores mínimos e máximos de x e y, definir as escalas dos eixos x e y, cuidando para que tenham o mesmo comprimento, e determinar para os eixos x e y entre 3 e 10 divisões para as unidades da escala de graduação, utilizando números inteiros. Quando duas variáveis consistirem em um fator e uma característica da qualidade, usar o eixo x para o primeiro e o eixo y para a última.
- Processar os dados, marcando-os em papel milimetrado ou com recursos de informática. Quando os mesmos valores de dados forem obtidos a partir de diferentes observações, eles são apresentados por meio de círculos concêntricos ou marcando o segundo ponto rente ao primeiro.
- Completar as informações do diagrama com o título, o período experimental, a quantidade de pares de dados, a denominação e a unidade de medida de cada eixo, e o nome do responsável.

A distribuição global obtida dos pares de dados é interpretada a partir do diagrama de dispersão. A ocorrência de pontos atípicos deve ser registrada. Qualquer ponto afastado do grupo principal pode ser indicativo de erros na medição ou no registro de dados, inclusive podendo ser a causa de mudança operacional. Os pontos suspeitos devem ser excluídos da análise de correlação e paralelamente avaliados quanto à sua ocorrência e as causas que os provocaram.

Vários tipos de dispersão ocorrem. Quando y aumenta com x, fica estabelecida uma correlação positiva. Quando x aumenta e y diminui, a correlação é negativa. Não há correlação quando x e y não apresentam relação específica entre si. A força da relação entre x e y num diagrama de dispersão é dada pelo coeficiente de correlação (r) (cuja definição e expressão matemática foram omitidas aqui), que está no intervalo $-1 \leq r \leq +1$. Se o valor absoluto de r for maior que 1, houve erro de cálculo e este último tem de ser refeito. No caso de forte correlação positiva, r atinge um valor próximo de +1; analogamente, numa forte correlação negativa, o valor de r está próximo de -1. Isto é, quando o r está próximo de 1, há a indicação de forte correlação entre x e y; quando o r está próximo de zero, a correlação é fraca. Exemplos de diagramas de dispersão envolvendo correlações positivas ou negativas, fortes ou potenciais, e ausência de correlação são indicados na Figura 7.

Gráficos de controle

Um gráfico de controle é um conjunto de três linhas definidas como limite superior de controle (LSC), linha central ou média e limite inferior de controle (LIC). É um gráfico de acompanhamento. Os dados insertos no gráfico definem em que estado se encontra o processo. Se estiverem dentro do LSC e do LIC, e sem tendências particulares, o processo estará sob controle. Se esses dados se posicionarem fora dos referidos limites de controle ou mostrarem disposição atípica, aí então o processo é considerado fora de controle (Figura 8)[25,26].

A qualidade de um produto obtido num processo inevitavelmente está sujeita à variação decorrente de várias causas. Estas podem ser classificadas em dois tipos – causas aleatórias (ou comuns) e causas assinaláveis (ou especiais). A variação originária de causas aleatórias é inevitável, mesmo quando o processo opera em condições padronizadas. Por outro lado, a variação provocada por causas assinaláveis significa a existência de fatores relevantes no processo a serem investigados. As causas assinaláveis são evitáveis e não podem ser negligenciadas. A incidência de pontos fora dos limites de controle ou que mostrem tendência particular equivale à existência de causas assinaláveis de variação e, portanto, o processo não está controlado. Para controlar um processo, as causas assinaláveis devem ser eliminadas e sua repetição evitada; as variações decorrentes de causas aleatórias são admissíveis[25,26].

A construção de um gráfico de controle envolve a estimativa da variação originária de causas aleatórias. Para isso, os dados são subdivididos em subgrupos nos quais os lotes de matérias-primas, as máquinas, os operadores e outros fatores sejam comuns. Isso é feito para que a variação dentro de cada subgrupo possa ser considerada aproximadamente igual à variação devida a causas aleatórias[26].

Em qualquer tipo de gráfico de controle, os limites superior e inferior de controle são calculados como:

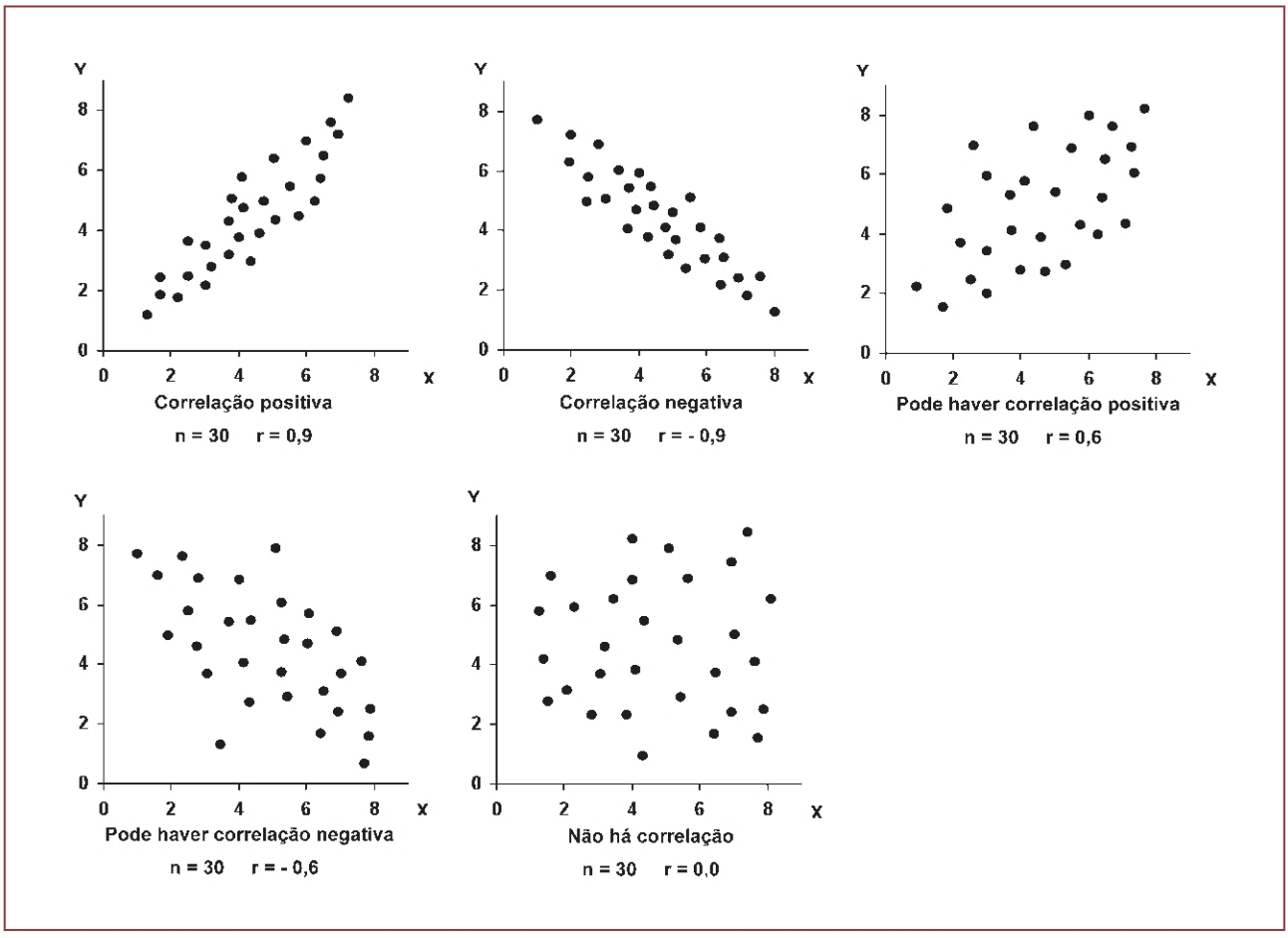


Figura 7. Diagramas de dispersão.
Fonte: Kume (1993)[26].

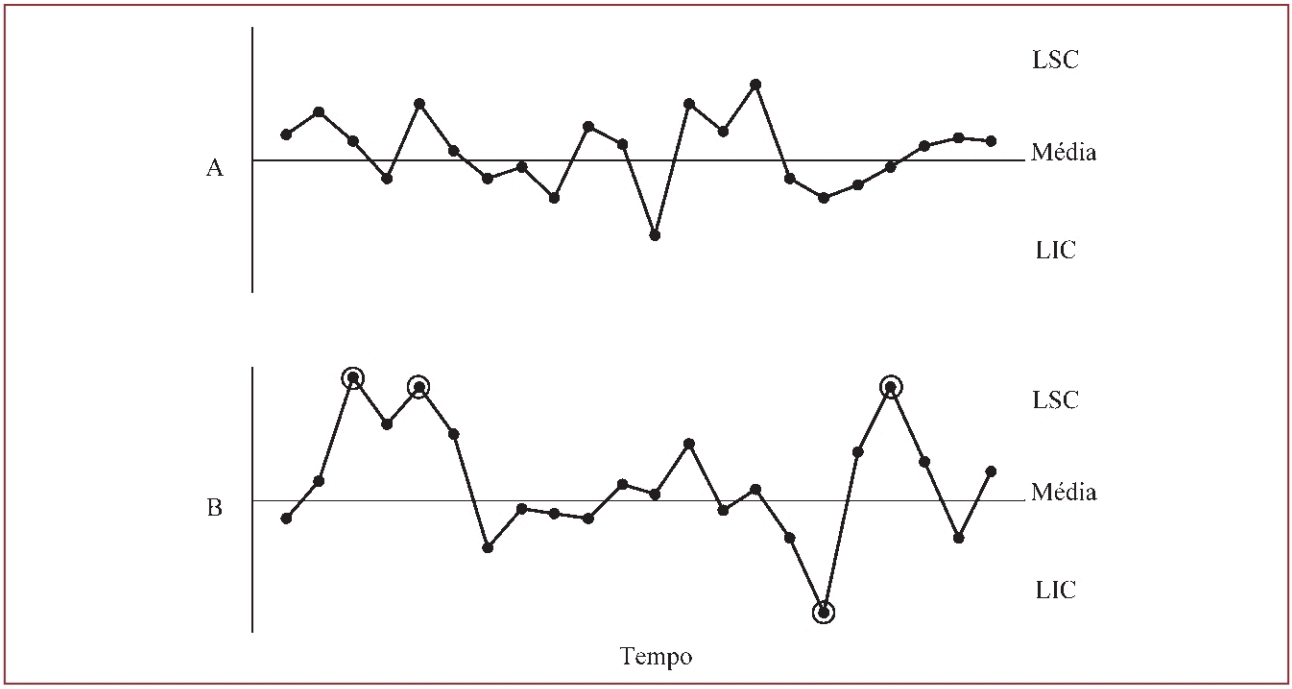


Figura 8. Gráficos de controle para processo sob controle (A) e fora de controle (B).
Fonte: Kume (1993)[26].

(valor médio) ± 3 × (desvio padrão). O desvio padrão é o da variação decorrente de causas aleatórias. Esse tipo de gráfico é denominado gráfico de controle 3-sigma. Vários tipos de gráfico de controle têm tido o uso recomendado. Por exemplo, o gráfico $\overline{x} - R$ (média e amplitude) é o tipo usado para controlar e analisar um processo com valores contínuos da qualidade do produto, como o comprimento, o peso e a concentração. O gráfico *pn* e o gráfico *p* são empregados quando a característica da qualidade é dada pelo número de itens defeituosos ou fração defeituosa; no caso de amostras de tamanho constante, é usado um gráfico *pn* do número de itens defeituosos, enquanto um gráfico *p* da fração defeituosa é utilizado para amostras de tamanho variável. Já o gráfico *c* e o gráfico *u* são destinados ao controle e à análise de um processo por meio dos defeitos de um produto, como riscos em metal revestido, número de soldas defeituosas em um aparelho de televisão e irregularidades na trama de tecidos. Um gráfico *c* do número de defeitos é usado para um produto de tamanho constante, enquanto um gráfico *u* é empregado no caso de um produto de tamanho variável[26].

Conhecer exatamente como um processo está funcionando depende da interpretação do gráfico de controle. A interpretação dos resultados é seguida de imediata ação corretiva, se necessária. Em determinado processo sob controle, a média e a variação não mudam. O processo é considerado sob controle ou não por vários critérios, a partir do gráfico de controle[26]:

- Fora dos limites de controle: os pontos estão fora dos limites de controle.
- Sequência: é a incidência de pontos consecutivos em um dos lados da linha média, e o número de pontos é denominado comprimento. Um comprimento de sequência de sete pontos é considerado anormal. Ainda que menor que seis pontos, o comprimento de sequência é anormal nas seguintes situações:
  - pelo menos 10 de 11 pontos consecutivos incidem no mesmo lado da linha média;
  - pelo menos 12 de 14 pontos consecutivos incidem no mesmo lado da linha média; e
  - pelo menos 16 de 20 pontos consecutivos incidem no mesmo lado da linha média.
- Tendência: quando os pontos formam uma linha contínua, ascendente ou descendente, é dito que apresentam uma tendência.
- Proximidade dos limites de controle: é a observação de pontos próximos dos limites de controle 3-sigma. Se 2 de 3 pontos consecutivos incidem além das linhas 2-sigma, é considerado anormal.
- Proximidade da linha média ou central: quando a maioria dos pontos está posicionada entre as linhas 1,5-sigma (as duas faixas entre a linha média e cada uma das linhas 1,5-sigma), isso se deve a uma maneira não adequada na formação de subgrupos. A proximidade da linha central não significa um processo sob controle, mas uma mistura de dados de diferentes populações em um único subgrupo, o que torna o intervalo entre os limites de controle muito amplo. Nesse caso, é preciso mudar a maneira de formar os subgrupos.
- Periodicidade: é anormal quando os pontos traçam repetidamente uma tendência para cima e para baixo em intervalos quase sempre iguais.

Método de solução de problemas

Planejar a qualidade é estabelecer seus padrões com o objetivo de satisfazer as pessoas, mantê-la significa a manutenção desses padrões e melhorá-la representa o estabelecimento de novos padrões da qualidade. Tanto para manter como para melhorar a qualidade, usa-se o método de solução de problemas; no primeiro caso, para eliminar os desvios crônicos; no segundo, para redirecionar o processo[11].

O método de solução de problemas tem por base o ciclo PDCA. Tem a representação de um círculo para indicar sua ação contínua de melhoria (Figura 9)[11,25].

Os propósitos do PDCA envolvem um planejamento participativo, a fim de que todos os envolvidos se comprometam com ele. É essencial que as metas sejam definidas e a metodologia para atendê-las seja competente e proporcione o alcance dos objetivos. A fase de execução do que foi planejado tem como base a capacitação das pessoas para o trabalho programado. Nessa fase, os dados derivados da tarefas executadas são coletados. A partir deles, é feita a comparação dos resultados, entre o que foi realizado e o que tinha sido planejado. Segue-se então a fase de ação corretiva, destinada a corrigir desvios observados na fase de verificação, envolvendo, inclusive, novo planejamento (reinício do PDCA).

Deve-se ressaltar a diferença entre o método e a ferramenta. O primeiro é uma sequência lógica para atingir a meta a ser alcançada; a segunda é o recurso usado no método. Não é suficiente conhecer apenas as ferramentas, como as sete ferramentas tradicionais da qualidade mencionadas anteriormente, se não houver o domínio do método. Tem sido considerado erroneamente que as sete ferramentas da qualidade servem para a solução de problemas. Na verdade, o que resolve problemas é o método, com o auxílio das ferramentas[11].

O método de solução de problemas envolve um fluxograma composto das fases: identificação do problema, observação, análise, plano de ação, ação, verificação, padronização e conclusão, além dos objetivos

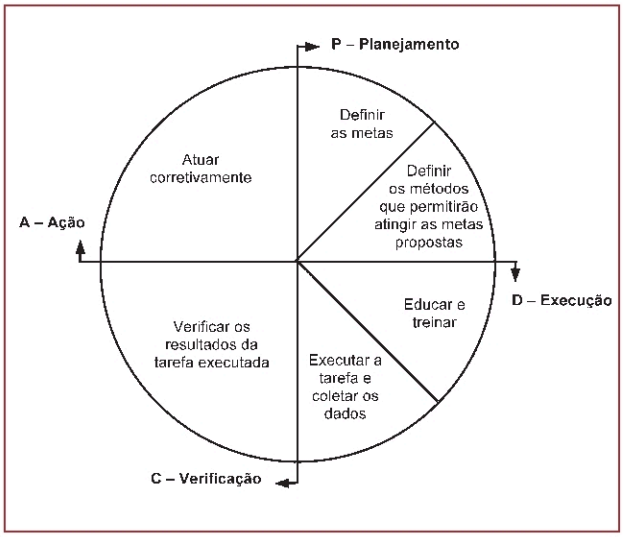


Figura 9. Ciclo PDCA.
Fonte: Brassard (1992)[25].

correspondentes, ajustados à dinâmica do PDCA (Figura 10). Posteriormente, cada uma dessas oito fases são, então, detalhadas e estudadas, com auxílio das diferentes ferramentas cabíveis, para obter solução do problema escolhido[11].

A BIOSSEGURANÇA VISTA COMO ITEM DA QUALIDADE

A biossegurança visa tanto quanto possível eliminar riscos inerentes gerados em diferentes atividades, nas quais pode ocorrer o comprometimento da saúde do homem, de animais e do meio ambiente[1]. Sendo os problemas de biossegurança questões da qualidade, ações de biossegurança devem fazer parte do conjunto de ações voltadas ao gerenciamento da qualidade como um todo. Para isso, é fundamental a existência de um programa da qualidade formalmente implantado.

PDCA	Fluxograma	Fase	Objetivo
P	1	Identificação do problema	Definir claramente o problema e reconhecer sua importância
	2	Observação	Investigar as características específicas do problema com uma visão ampla e sob vários pontos de vista.
	3	Análise	Descobrir as causas fundamentais
	4	Plano de ação	Conceber um plano para bloquear as causas fundamentais
D	5	Verificação	Bloquear as causas fundamentais
C	6	Ação	Verificar se o bloqueio foi efetivo.
	Não ? Sim	(Bloqueio foi efetivo?)	
A	7	Padronização	Prevenir contra o reaparecimento do problema
	8	Conclusão	Recapitular todo o processo de solução do problema para trabalho futuro

Figura 10. Método de solução de problemas.
Fonte: Campos (1992)[11].

A Qualidade Total, o 5S e o HACCP foram objetivamente considerados programas capazes de atender aos propósitos da qualidade, incluindo questões de biossegurança. Sem dúvida, outros programas existem e podem ser também indicados nesse sentido. Aos programas citados incorporam-se favoravelmente as boas práticas, as normas e os procedimentos destinados à manutenção e à melhoria da qualidade.

O programa da Qualidade Total é o mais amplo sistema gerencial, contemplando todos os aspectos que envolvem a qualidade. Há um enfoque principal em relação aos clientes – internos (funcionários) e externos (consumidores finais) – por definição, dependendo da satisfação de ambos a existência da organização. Contudo, todos os demais princípios são igualmente importantes, sem os quais a organização não teria como chegar à satisfação de seus clientes.

Os princípios para a gestão do programa sugerem, como filosofia de trabalho a ser seguida, que qualquer organização pode perfeitamente atingir a Qualidade Total em sua plenitude, independentemente do tamanho e da complexidade que possa ter. Independe também do tipo de atividade, seja em laboratório de pesquisa, na produção industrial, no ensino, na prestação de serviços, em processos tecnológicos etc.

O 5S é um programa de menor complexidade, voltado para o ambiente de trabalho, que dá sustentação a programas da qualidade e produtividade. Sua implantação tem sido sugerida como fundamental para o programa da Qualidade Total. A implantação do 5S pode ser mais apropriadamente feita antes da implantação da Qualidade Total, não sendo contraindicado que isso possa ocorrer de forma paralela. A versatilidade do programa permite a escolha da terminologia e a interpretação dos sensos correspondentes a cada *S*, com base nas necessidades reais da organização.

O HACCP é menos complexo que o 5S. Identifica perigos específicos e aponta medidas preventivas para seu controle. Tem o objetivo de controlar os pontos críticos de maior potencialidade, para afastar a possibilidade de que a qualidade como um todo possa ser afetada. Caracteristicamente, esse programa tem como pré-requisito a existência de normas operacionais, conhecidas como boas práticas, as quais, não sendo totalmente eficientes sob o aspecto da qualidade, podem ser controladas pelo HACCP.

A Qualidade Total, o 5S e o HACCP podem estar implantados isoladamente ou no conjunto, de forma perfeita e compatível. Independentemente do programa implantado, o importante é que ele satisfaça plenamente a demanda existente numa organização.

Por sua vez, a Norma ABNT NBR ISO 9001:2008 cuida da gestão de sistemas e garantia da qualidade. Não é preciso haver programa da qualidade formalmente implantado para que uma organização tenha seu sistema de garantia da qualidade representado por esta Norma, desde que seja esta a demanda específica da referida organização. O mesmo pode ser dito em relação à ABNT NBR ISO 14001:2004[7], cuja finalidade serve aos propósitos específicos da qualidade do meio ambiente. As Normas ABNT NBR ISO 9001:2008[6] e 14001:2004[7] apresentam outra característica. As organizações que as adotam o fazem para demonstrar externamente capacitação inerente, ostentando isso por meio da certificação correspondente. É uma forma de posicionamento no mercado, sobretudo internacional, em muitos casos.

Quanto ao método de solução de problemas, ele é fundamental para a manutenção da qualidade existente, ao permitir que desvios crônicos sejam eliminados. É essencial também no redirecionamento do processo, com o estabelecimento de novos padrões da qualidade, isto é, permite a melhoria contínua da qualidade. O método em apreço só pode ser desenvolvido com o auxílio dos recursos representados pelas ferramentas da qualidade.

A gestão pela qualidade é desenvolvida em nível de processo. Um processo envolve pessoas, matérias-primas, máquinas e equipamentos, métodos, ambientes de trabalho etc. Compõe-se, portanto, de atividades, e gera produtos e/ou serviços. Sob a óptica da Qualidade Total, a organização é considerada um processo como um todo – um grande processo –, voltado ao atendimento das necessidades dos clientes. Considerando o fato de que são fundamentais a questão do tamanho e a complexidade do processo para que ele possa ser entendido plenamente a fim de ser monitorado e controlado, a organização se subdivide em processos produtivos e administrativos interligados adequadamente menores.

Apenas com o domínio sobre o processo é possível gerenciá-lo. Esse gerenciamento é traduzido pela capacidade de monitoramento e controle de variáveis que afetam a qualidade, além do perfeito e exato conhecimento das ações corretivas cabíveis que devam ser aplicadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Política nacional de biodiversidade. Brasília: MMA; 2000. 48p.
2. Nogueira RP. Perspectivas da qualidade em saúde. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1994.
3. Costa MAF da. Biossegurança. Segurança química básica em biotecnologia e ambientes hospitalares. São Paulo: Livraria Santos; 1996.
4. Nogueira RP. Gestão da qualidade e biossegurança. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998. p. 65-74
5. Costa MAF da. Qualidade em biossegurança. Rio de Janeiro: Qualitymark; 2000.

6. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR ISO 9001:2008 Sistemas de gestão da qualidade – requisitos. Rio de Janeiro: ABNT; 2008.
7. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR ISO 14001:2004 Sistemas da gestão ambiental – requisitos com orientações para uso. Rio de Janeiro: ABNT; 2004.
8. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). Qualidade total. Folha de S. Paulo. 1994.
9. Rangel A. Momento da qualidade. São Paulo: Atlas; 1995.
10. Juran JM. A função da qualidade. In: Juran JM, Gryna FM. Controle da qualidade. Conceitos, políticas e filosofia da qualidade. v. 1. Trad. Maria Cláudia de Oliveira. São Paulo: Makron Books do Brasil; 1991. p. 10-31.
11. Campos VF. TQC: controle da qualidade total (no estilo japonês). 4. ed. Belo Horizonte: Fundação Chritiano Ottoni; 1992.
12. Ishikawa K. Controle de qualidade total à maneira japonesa. Trad. Iliana Torres. Rio de Janeiro: Campus; 1993.
13. Fundação Christiano Ottoni (FCO). Casos reais de implantação de TQC. Belo Horizonte: Fundação Christiano Ottoni; 1994.
14. Silva JM da. 5S: o ambiente da qualidade. Belo Horizonte: Fundação Chritiano Ottoni; 1994.
15. Mortimore S, Wallace C. HACCP. A practical approach. Londres: Chapman & Hall; 1994.
16. Tzouros NE, Arvanitoyannis IS. Implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the fish/seafood industry: a review. Food Reviews International. 2000;16(3):273-325.
17. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos (SBCTA). Manual de boas práticas de fabricação para indústria de alimentos. Campinas: SBCTA; 1991.
18. Grist NR. Manual de biossegurança para o laboratório. 2. ed. São Paulo: Livraria Santos; 1995.
19. Teixeira P, Valle S. Riscos biológicos em laboratórios de pesquisa. In Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 41-64.
20. Costa MAF da. Segurança química em biotecnologia: uma abordagem crítica. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 123-31.
21. Romão CMCA. Desinfecção e esterilização química. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 133-62.
22. Santos R dos. Princípios básicos de proteção radiológica na utilização de materiais radioativos em laboratórios. In: Teixeira P, Valle S. Biossegurança. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1998. p. 209-24.
23. Carvalho PR de. Boas práticas químicas em biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência; 1999.
24. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos (SBCTA). Manual de análise de riscos e pontos críticos de controle – ARPCC. Campinas: SBCTA; 1993.
25. Brassard M. Qualidade – ferramentas para uma melhoria contínua. Trad. Proqual Consultoria e Assessoria Empresarial. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1992.
26. Kume H. Métodos estatísticos para melhoria da qualidade. Trad. Dario Ikuo Miyake. São Paulo: Gente; 1993.
27. Besterfield DH. Quality control. 5. ed. Nova Jersey: Prentice Hall; 1998.

capítulo 15

Garantia da qualidade e biossegurança em centros de tecnologia celular para fins de pesquisa clínica e terapia celular e molecular

Mari Cleide Sogayar
Fernando Henrique Lojudice
Marluce da Cunha Mantovani

INTRODUÇÃO

A pesquisa translacional em terapias avançadas se tornou uma das prioridades tanto da comunidade científica como do governo federal. O termo "terapias avançadas" inclui uma variedade de novas estratégias terapêuticas, baseadas no progresso da pesquisa biomédica e na utilização de novas e sofisticadas tecnologias, visando a intervenções moldadas para cada paciente e descoberta de novos biomarcadores efetivos para previsão e acompanhamento da resposta clínica.

Produtos medicinais em terapia avançada, do inglês *advanced therapy medicinal products* (ATMP), constituem uma nova categoria de produtos que compreende a terapia gênica e a terapia celular, bem como a engenharia de tecidos (bioengenharia) e a produção de biofármacos. O desenvolvimento de ATMP abre novos caminhos para abordagens terapêuticas de diversas doenças, incluindo câncer, diabetes, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares.

Esses produtos estão sendo desenvolvidos para fins de pesquisa clínica e terapia por Centros de Tecnologia Celular (CTC), criados em 2008 no Brasil, por meio de uma iniciativa conjunta dos Ministérios da Saúde e de Ciência e Tecnologia, por uma agência financiadora federal (Financiadora de Estudos e Projetos – Finep) e do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES). Como esse tipo de terapia envolve a manipulação de células humanas e seus derivados, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) lançou uma RDC (n. 9/2011) que determina que os CTCs devem cumprir certos requisitos técnico-sanitários mínimos para a coleta, processamento, acondicionamento, armazenamento, testes de controle de qualidade, descarte, liberação para uso e transporte de células humanas e seus derivados, visando à segurança e à qualidade das células e de seus derivados disponibilizados para a pesquisa clínica e terapia.

HISTÓRICO

A terapia celular, também chamada de terapia com células vivas, é baseada em uma teoria já usada sistematicamente por Hipócrates, que utilizava o órgão correspondente de animais saudáveis para tratar doenças em humanos, tendo sido definitivamente estabelecida no século XVI por Paracelso, a quem se atribuiu a famosa frase: "O coração cura o coração; o pulmão, o pulmão; o baço, o baço. O igual cura o igual".

Em 1912, o Dr. Kuettner, um pioneiro em terapia celular, recomendou que os órgãos não poderiam ser transplantados em sua totalidade, mas, sim, cortados em pequenos pedaços, dissolvidos em solução salina e injetados no paciente.

Entretanto, foi apenas em 1931 que a moderna terapia celular foi definitivamente impulsionada com o trabalho do Dr. Paul Niehans, da Suíça, que utilizou a abordagem Kuettner em um paciente do sexo feminino, cuja paratireoide havia sido erroneamente removida por outro médico durante uma operação para o bócio. O transplante não foi possível, pois a paciente sofria de cólicas intensas e estava em estado terminal. Dr. Niehans

procedeu à maceração da paratireoide de um embrião de boi, adicionou solução salina e injetou essa suspensão na paciente como alternativa para sobrevivência temporária. O implante não só foi bem tolerado, como a paciente se recuperou completamente e viveu por mais 24 anos. Dr. Niehans foi estimulado pelos trabalhos anteriores do Dr. Alexis Carrel, que demonstraram a influência de células saudáveis sobre aquelas que estavam morrendo, tendo descoberto que ao adicionar novas células saudáveis à uma cultura de células morimbundas, estas adquiriam vida novamente. Em 1954, a obra clássica de Dr. Paul Niehans, *Die Zellulartherapie* (terapia celular) foi publicada em alemão.

A longa experiência de Niehans o levou a definir a terapia celular como: "um método de tratamento de todo o organismo numa perspectiva biológica, capaz de revitalizá-lo com os seus trilhões de células, dando-lhe essas células embrionárias ou jovens de que ele carece [...] a terapia celular seletiva oferece nova vida a um organismo em padecimento ou doente". E conclui: "É uma terapia seletiva que visa desenvolver órgãos atrofiados ou regenerar aqueles que já não são capazes de fazê-lo". E ainda acrescenta que mesmo os pacientes gravemente doentes toleram excepcionalmente bem o tratamento, jamais tendo sido detectado qualquer problema secundário grave nos seus 45.000 tratamentos.

A partir dos anos de 1960, Dr. H. Lettré e Dr. F. Schimidt efetuaram estudos diferentes nas Universidades de Viena e de Heidelberg, e mostraram, inquestionavelmente, que os constituintes vitais de uma glândula retirada de um bezerro, quando injetadas num ser humano, iam diretamente para a mesma glândula ou órgão. Era evidente que as células vivas ofereciam um conjunto bioquimicamente único, especificamente necessário para reparar a glândula ou órgão doente, que não poderia ser obtido de outra forma.

Em paralelo, durante muitas décadas, estudou-se o processo de hematopoiese (processo de produção das células sanguíneas) a partir de células multipotentes, localizadas no interior dos ossos, que são capazes de dar origem a células progressivamente mais diferenciadas e com menor capacidade proliferativa. Em 1937, Schretzenmayr administrou injeções intramusculares de medula óssea alogênica e autóloga a pacientes portadores de infecções com algum sucesso. A primeira utilização intravenosa de medula óssea foi realizada por Osgood, em 1939, embora essa via tenha sido desconsiderada por muitos anos. Em 1944, Bernard injetou medula óssea alogênica dentro da cavidade medular e concluiu que os resultados, bastante pobres, eram decorrentes do fato das células atingirem a grande circulação. Jacobson et al. (1951) demonstraram que camundongos poderiam se recuperar da irradiação letal se áreas dos fêmures e baço fossem protegidas com chumbo. Posteriormente, Lorenz, em 1952, mostrou recuperação hematopoiética após infusão de medula em camundongos irradiados. George Mathé foi pioneiro no desenvolvimento do transplante de medula clínico. Em 1958, seis físicos foram acidentalmente expostos a doses de irradiação entre 600 e 1.000 rads, tendo sido tratados com infusão de células da medula óssea alogênica (doadores da mesma espécie). A recuperação hematopoiética foi temporária, mas serviu para proteger os pacientes durante o período de aplasia.

Na década de 1960, foi descoberto que organismos adultos têm capacidade de autorregenerar determinados tecidos como a pele, o epitélio intestinal e, principalmente, o sangue, que tem suas células constantemente destruídas e renovadas, em um complexo e finamente regulado processo de proliferação e diferenciação celular. Foi nesse contexto que surgiram as células-tronco (CT), células com capacidade prolongada/ilimitada de proliferação, que são capazes de gerar descendentes mais especializados. Porém, foi apenas na década de 1990 que houve um avanço na busca por terapias celulares que restabeleçam funções perdidas por pacientes. O desenvolvimento dos chamados produtos medicinais em terapia avançada abre novos caminhos para novas abordagens terapêuticas em muitas doenças, tendo um enorme potencial em termos de impacto possível sobre a vitalidade dos pacientes, a saúde pública e a indústria.

No entanto, ainda existem gargalos importantes para o desenvolvimento da terapia celular, por causa da complexidade do quadro regulamentar, os altos custos e as necessidades de Boas Práticas de Fabricação (BPF), instalações adequadas e novos desfechos para a experimentação clínica.

PRODUTOS MEDICINAIS EM TERAPIA AVANÇADA

Os ATMP constituem uma nova categoria de produtos, compreendendo a terapia gênica e a terapia celular, bem como a engenharia de tecidos e os biofármacos (Tabela 1).

PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA

A Terapia Gênica utiliza transferência de sequências genéticas (DNA, RNA) para células, utilizando diferentes métodos, incluindo vetores plasmidiais virais ou bacterianos. As sequências genéticas são delineadas para modificar, controlar, inibir ou expressar um alvo específico. Ao usar esses vetores, é possível alcançar a modificação genética de células somáticas *in vivo*.

A modificação genética das células germinativas é estritamente proibida. Células somáticas também po-

Tabela 1. **Principais ATMP que estão em desenvolvimento atualmente e seu potencial uso na medicina humana**

Principais produtos medicinais em terapia avançada em desenvolvimento	Potencial uso médico
Células dendríticas Linfócitos T Linhagens celulares Células de cultura primária geneticamente modificadas	Imunoterapias
Células-tronco	Diversos
Condrócitos	Reparo de cartilagem/articulações
Células hematopoiéticas/mesenquimais	Regeneração óssea Regeneração muscular/miocardíaca Tecido nervoso
Ilhotas pancreáticas	Regeneração da função endócrina pancreática
Células endoteliais	Regeneração de microcirculação em tecidos isquêmicos
Células epiteliais	Pele artificial Reparo da córnea
Células hepáticas	Fígado bioartificial
Células neuronais	Regeneração neuronal
Vetores virais Vetores não virais Células geneticamente modificadas	Produtos de terapia gênica
Fatores VIII e XI BMPs 2 e 7 Amilina VEGF	Biofármacos

dem ser modificadas *ex-vivo* ou *in vitro*, ou seja, antes de sua administração ao paciente. Tais células podem ser destinadas ao mesmo paciente que doou as células de partida (transplante autólogo) ou podem ser obtidas a partir de doadores de órgãos/tecidos da mesma espécie (transplante alogênico).

PRODUTOS DE TERAPIA CELULAR

Os produtos de terapia celular são heterogêneos com relação à origem e ao tipo de células e à complexidade das manipulações necessárias para se chegar ao produto final. As células podem ser células-tronco de autorrenovação, células progenitoras ou células diferenciadas, manipuladas ou expandidas *in vitro*, para exercer uma função fisiológica específica. As células podem ser de origem autóloga (do próprio indivíduo que vai recebê-las), alogênicas (entre indivíduos da mesma espécie) ou xenogênica (células provenientes de doadores de espécies diferentes). Além disso, as células também podem ser geneticamente modificadas ou utilizadas de forma isolada, associadas com biomoléculas e substâncias químicas, ou combinadas com materiais estruturais classificados como dispositivos médicos.

PRODUTOS DE ENGENHARIA DE TECIDOS

Produtos de engenharia de tecidos humanos combinam diversos aspectos da medicina, da biologia celular e molecular, da ciência de materiais e da engenharia, com o propósito de se regenerar, reparar ou substituir tecidos doentes ou ausentes. Seu modo de ação é baseado na substituição de tecido em falta, na restauração da função do tecido ou na substituição de tecidos doentes, sendo, frequentemente, caracterizados por uma complexa estrutural tridimensional.

PRODUTOS BIOFÁRMACOS

Os biofármacos ou medicamentos biológicos são medicamentos obtidos por alguma fonte ou processo biológico, ou seja, o princípio ativo do medicamento é obtido por meio do emprego industrial de micro-organismos ou de células modificadas geneticamente. Esses processos biotecnológicos (realizados *in vitro* ou *in vivo*) permitem a produção de novas proteínas mais complexas, e/ou proteínas com maior atividade biológica, e/ou com mais vida média e/ou com menor incidência de efeitos colaterais do que aquelas já existentes,

sendo geralmente produzidos a partir de uma proteína e/ou de um ácido nucleico.

GARANTIA DA QUALIDADE E BIOSSEGURANÇA EM CENTROS DE TECNOLOGIA CELULAR

Quando se trata de CTC, sociedades e comunidades científicas internacionais (ISCT, AABB, EBMT, FACT, JACIE, FDA etc.) estão envolvidas nos processos legais, constantemente estabelecendo padrões e procedimentos, para que sejam seguidos pelos bancos de células do mundo inteiro. São normas ou diretrizes que visam à regulamentação e à avaliação de processos cujo principal produto são "células humanas". Nesse aspecto, as regulamentações concordam que a prestação desse tipo de serviço e a obtenção do produto final (ATMP) devem seguir as normas e princípios das BPF e das boas práticas de manufatura, do inglês *good manufacturing practices* (GMP). Porém, nesse último caso, o conceito de boas práticas fica mais abrangente, englobando as Boas Práticas de Fabricação, clínica e experimentação laboratorial.

A implementação de um programa de garantia da qualidade tem sido uma exigência constante para que seja garantido um produto final dentro das boas práticas. Somente a partir da utilização e implementação do conjunto de normas classificadas como GMP pode-se garantir que o produto final obtido seja considerado um produto de qualidade e seguro para sua utilização em terapias avançadas.

O desenvolvimento e a implementação de um sistema de garantia da qualidade necessita de um suporte documental que reflita a política, a organização, as ações, as estratégias e as instruções do serviço. Tudo o que se faz tem que ser escrito segundo normas previamente estabelecidas, após extensa discussão e de acordo com o conhecimento e as possibilidades técnicas e científicas de cada instituição em cada momento. Portanto, só se pode fazer aquilo que foi estabelecido que cada um deve fazer como deve ser feito, segundo procedimentos escritos ou Procedimentos Operacionais Padrão (POP).

Biossegurança, que significa vida + segurança, em sentido amplo, é conceituada como a vida livre de perigos. Genericamente, medidas de biossegurança são ações que contribuem para a segurança da vida, no dia a dia das pessoas (por exemplo, cinto de segurança, faixa de pedestres). Assim, normas de biossegurança englobam todas as medidas que visam evitar riscos físicos (como radiação ou temperatura), ergonômicos (posturais), químicos (substâncias tóxicas), biológicos (agentes infecciosos) e psicológicos (estresse), visando à saúde humana e dos animais, à preservação do meio ambiente e à qualidade dos resultados.

DOCUMENTAÇÃO TÉCNICA

A documentação técnica traz um suporte documental que reflete a política, a organização, as ações, as estratégias e as instruções do serviço, sendo escrita segundo normas estabelecidas e constituindo uma parte essencial do Sistema de Garantia da Qualidade. A documentação deve possibilitar o rastreamento de todas as informações, permitindo investigação de qualquer suspeita de desvio de qualidade.

Os documentos devem ser aprovados, assinados e datados pelo responsável técnico ou pessoa por este autorizada. Qualquer alteração introduzida deve permitir o conhecimento de seu conteúdo original e, conforme o caso, justificar o motivo da alteração.

As principais documentações técnicas são: manual da qualidade, POP, manual de biossegurança e documentos gerais.

Manual da qualidade

O manual da qualidade é um documento complexo que expõe a política de qualidade da direção e a organização do serviço. Dentro desse manual devem constar os seguintes documentos:

- Responsabilidade da direção.
- Sistema de qualidade.
- Revisão do contrato.
- Controle do projeto.
- Detalhamento do controle de documentação e dos dados.
- Detalhamento das compras.
- Detalhamento do controle dos processos.
- Detalhamento da inspeção e do ensaio.
- Detalhamento do controle dos equipamentos de inspeção, medição e ensaio.
- Detalhamento do estado de inspeção e ensaio.
- Detalhamento do controle dos produtos não conformes.
- Detalhamento das ações corretivas e de prevenção.
- Detalhamento da manipulação, do armazenamento, da embalagem e da conservação.
- Detalhamento do controle dos registros de qualidade.
- Detalhamento das auditorias internas da qualidade.

Procedimentos operacionais padrão

Procedimentos Operacionais Padrão(POP – em inglês, *Standard Operating Procedure* – SOP) consistem em uma descrição detalhada de todas as operações necessárias para a realização de uma atividade, ou seja, é um roteiro padronizado para realizar uma atividade.

Nesse documento são definidas as responsabilidades de cada indivíduo e a forma como deve executar, interpretar e registrar cada procedimento.

Manual de biossegurança

O manual de biossegurança deve conter instruções escritas de biossegurança, documentando o nível de biossegurança dos ambientes e áreas com base nos procedimentos realizados e equipamentos utilizados, adotando medidas de segurança compatíveis. Dentro desse manual devem constar, no mínimo, os seguintes itens:

- Normas e condutas de segurança biológica, química, física, ocupacional e ambiental.
- Instruções de uso para os equipamentos de proteção individual (EPI) e de proteção coletiva (EPC).
- Procedimentos em caso de acidentes.
- Transporte e manuseio de material e/ou amostra biológica.

Documentos gerais

Constituem um grande grupo de documentos que devem ser arquivados para possibilitar o rastreamento de informações para qualquer tipo de investigação ou para qualquer suspeita de desvio de qualidade, consistindo de registro de atividades, controles de qualidade, certificados, relatórios, formação de pessoal, registro de não conformidades etc.

Área física

A infraestrutura física dos CTC deve atender ao disposto no regulamento técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde, aprovado pela RDC Anvisa n. 50, de 21 de fevereiro de 2002.

A estruturação física deve ter uma disposição de ambientes tal que permita circulação com fluxo independente de insumos, material biológico, profissionais e resíduos, permitindo a limpeza e a manutenção, com a finalidade de garantir a qualidade das células humanas e seus derivados em todas as fases do processo.

Dependendo da extensão da manipulação e do tipo de produto medicinal em terapia avançada, seu processamento deve ocorrer exclusivamente em ambiente classificado.

As chamadas áreas ou salas biolimpas são ambientes qualificados de alta tecnologia com controle estrito de temperatura e umidade do ar ambiente, pressão da sala, número de trocas e fluxo de ar e controle de partículas.

Esse ambiente garante a proteção do produto, consistindo de:

- Proteção de ingredientes ativos contra riscos de contaminação cruzada.
- Proteção de intermediários e produtos finais contra contaminação por:
  - microrganismos e seus produtos de metabolismo,
  - ingredientes ativos de outros produtos.
- Proteção de processos de trabalho de biotecnologia contra contaminação por microrganismos de outros processos.
- Garantia de esterilidade.

Esse ambiente também garante proteção do pessoal, como:

- Separação do pessoal, evitando contato com ingredientes altamente ativos como antibióticos e hormônios;
- Proteção do ambiente de operação e, consequentemente, proteção aos seres humanos e animais contra emissões de ingredientes altamente ativos como antibióticos e hormônios.

Existem inúmeros tipos de áreas biolimpas, instaladas das mais diversas formas, dependendo da necessidade do processo em atender plenamente a demanda de produção e /ou proteção do pessoal.

Algumas exigências gerais para uma sala biolimpa são:

- Forro:
  - Inteiramente fechado e selado para evitar vazamento de ar.
  - Filtro do teto filtrante em sobrepressão.
  - Sistema de iluminação integrado.
  - Menor número possível de elementos inseridos.
- Paredes:
  - Acabamento liso, livres de poros e resistentes à abrasão.
  - Janelas e portas lisas com vidros duplos sem reentrâncias.
  - Frestas seladas.
  - Menor número possível de superfícies horizontais.
- Existem algumas exigências suplementares para uma sala biolimpa:
  - Fáceis de limpar e desinfetar.
  - Resistentes aos desinfetantes normais.
  - Beiradas e frestas devem ser consequentemente evitadas a fim de coibir a adesão de microrganismos.
  - Cantos devem ser arredondados.



Figura 1. Fotos ilustrando algumas exigências gerais e suplementares de uma sala biolimpa. Fotos da Sala Biolimpa classificação GMP Grau C (Classe 10.000 – ISO 7), contendo em seu interior ambientes GMP Grau B (Classe 100 – ISO 5) do Núcleo de Terapia Celular e Molecular (Nucel) da Universidade de São Paulo.

A classificação de áreas biolimpas em classes 100, 10.000 e 100.000 foi comumente utilizada no Brasil até a publicação, em 1999, da norma ISO 14644-1. Essa classificação foi estabelecida pela U.S. Federal Standard 209, sendo a designação da classe definida como o número máximo de partículas em suspensão no ar ≥ 0,5 mm por pé cúbico, permitido para uma sala biolimpa de determinada classe.

Em 2004, o Food and Drug Administration (FDA) publicou o documento FDA Guidance for Industry – Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice. Esse documento continua a utilizar a terminologia estabelecida (classes 100, 10.000 e 100.000), mas já faz correlação com a classificação ISO. O documento também apresenta uma correlação com a EU GMP (EudraLex Volume 4 – EU Guidelines to Good Manufacturing Practice – Medicinal Products for Human and Veterinary Use – Annex 1 – Manufacture of Sterile Medicinal Products).

A designação da área biolimpa em graus A, B, C ou D está baseada na EU GMP. A revisão vigente desse documento é de 2008. Para a classificação de áreas limpas, a EU GMP estabelece os limites para as partículas em suspensão no ar, nos estados ocupacionais "em repouso" e "em operação". A EU GMP também estabelece os limites para a contaminação microbiológica durante o monitoramento "em operação".

A RDC n. 210 da Anvisa é o Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos atualmente vigente no país. A RDC n. 210 classifica as áreas biolimpas em graus A, B, C ou D, conforme as características da qualidade do ar. A classificação de áreas limpas estabelecida na RDC n. 210 está baseada no documento técnico da OMS/WHO Technical Report Series, N. 902, 2002.

A manipulação e a exposição dos produtos medicinais de terapia avançada devem ocorrer exclusivamente em ambiente GMP Grau B (Classe 100 – ISO 5). Esse ambiente deve ser inserido, dependendo da extensão da manipulação e do tipo de produto medicinal em terapia avançada, em uma sala com classificação mínima GMP Grau C (Classe 10.000 – ISO 7) ou GMP Grau

Tabela 2. Classificação de áreas limpas quanto às partículas em suspensão no ar, mostrando uma correlação entre a classificação de áreas limpas conforme diversos documentos de referência.

WHO (GMP)	EUA	ISO	EU (GMP)
Grau A	Classe 100	ISO 5	Grau A
Grau B	Classe 100	ISO 5	Grau B
Grau C	Classe 10.000	ISO 7	Grau C
Grau D	Classe 100.000	ISO 8	Grau D

D (Classe 100.000 – ISO 8), contendo antecâmara e vestiário de barreira dotado de lavatório e área de paramentação no acesso à sala onde será processado o material biológico.

Materiais e reagentes

A etapa inicial na aquisição de materiais e reagentes é o processo de qualificação de fornecedores, devendo haver um POP escrito, detalhando todas as etapas do processo de qualificação dos fornecedores, e mantidos todos os registros e os documentos apresentados por cada fornecedor e/ou fabricante.

A qualificação do fabricante deve ser feita abrangendo, no mínimo, os seguintes critérios:

- Comprovação de regularidade perante as autoridades sanitárias competentes.
- Avaliação do fabricante/fornecedor, por meio de análises de controle de qualidade realizadas pelos CTC e da avaliação dos laudos analíticos apresentados.
- Auditorias para verificação do cumprimento das normas de BPF.
- Avaliação do histórico dos fornecimentos anteriores.

Materiais, reagentes e produtos para diagnóstico de uso *in vitro* utilizados para coleta, processamento, testes laboratoriais, preservação e expansão dos produtos medicinais em terapia avançada e seus derivados devem estar regularizados junto à Anvisa, de acordo com a legislação específica vigente.

Todos os materiais, reagentes e produtos utilizados para diagnóstico *in vitro* e que mantêm contato com as células e seus derivados, devem ser estéreis, apirogênicos, não citotóxicos e, quando couber, de uso único, bem como devem ter a origem, a validade e o número do lote registrados, a fim de garantir sua rastreabilidade. Para os materiais passíveis de processamento, deve existir um procedimento de limpeza e esterilização validado, de acordo com a legislação vigente.

Os reagentes preparados ou aliquotados pelo próprio laboratório devem ser identificados com rótulo contendo: nome, concentração, número de lote, data de preparação, identificação de quem preparou, data de validade, condições de armazenamento, além de informações referentes a riscos potenciais. Devem ser mantidos registros dos processos de preparo e do controle da qualidade dos reagentes preparados.

A utilização de materiais, reagentes e produtos para diagnóstico de uso *in vitro* deve respeitar as recomendações de uso do fabricante, condições de preservação, armazenamento e os prazos de validade, não podendo ser utilizados após expiração de sua validade.

Todas as metodologias de preparo de materiais e reagente no próprio laboratório devem ser documentadas, incluindo, no mínimo:

- Descrição das etapas do processo.
- Especificação e sistemática de aprovação de materiais, reagentes e produtos para diagnóstico *in vitro*, de equipamentos e de instrumentos.
- Sistemática de validação.
- Registro de todo o processo.

É importante ressaltar que a utilização de produtos de origem animal deve ser evitada. Se forem utilizados produtos de origem animal, estes devem possuir certificação de ausência de agentes infecciosos e contaminantes. Além disso, para fatores peptídicos de crescimento/diferenciação, devem ser estabelecidas medidas de identidade, pureza e potência para assegurar a reprodutibilidade das características da cultura celular.

Equipamentos

Os equipamentos são peças cruciais nos procedimentos realizados para a produção de produtos medicinais em terapia avançada, sendo, por isso, de grande importância manter seu bom estado de funcionamento. Para tanto alguns cuidados devem ser tomados:

- Possuir equipamentos e instrumentos específicos e em quantidade necessária ao atendimento de sua demanda.
- Manter instruções escritas e atualizadas referentes ao uso dos equipamentos disponíveis aos funcionários do setor, as quais devem ser complementadas por manuais do fabricante.
- Implementar e manter um programa de manutenção preventiva e corretiva, no qual conste um cronograma de intervenção.
- Manter os equipamentos de medição calibrados, com seus respectivos registros.
- Manter registros da origem e série dos equipamentos utilizados a fim de garantir a rastreabilidade do processo.

Além disso, para garantir a qualidade e a rastreabilidade, é importante manter o registro sistemático de todas as intervenções realizadas nos equipamentos, informando data, responsável pela intervenção, descrição da intervenção e, em caso de substituição de peças, lista das peças substituídas. As planilhas de controle das rotinas de uso e manutenção dos equipamentos devem

ficar permanentemente disponíveis para consulta. Deve ser mantido um registro diário das condições dos equipamentos, o qual deve ser assinado e periodicamente revisado por uma pessoa qualificada.

Seleção do doador/paciente

Os produtos medicinais em terapia avançada, compreendendo a terapia gênica e a terapia celular, bem como a engenharia de tecidos e biofármacos, dependem, em sua quase totalidade, da doação de células humanas para seu uso em pesquisa clínica ou terapia. Toda doação de células humanas deve respeitar os preceitos legais e éticos sobre o assunto, ficando garantido o sigilo, a não percepção de remuneração ou de benefício direto, e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme legislação vigente.

Para obtenção de órgãos humanos, as seguintes normas devem ser seguidas, conforme legislação vigente, realizando-se uma triagem baseada nas informações contidas na ficha do doador de órgão com informações clínicas e laboratoriais. Para a obtenção de células humanas, deve-se realizar triagem clínica e laboratorial. A triagem laboratorial deve seguir aquela determinada para a doação de sangue, conforme legislação vigente. Para a obtenção de embriões ou células-tronco embrionárias, devem ser seguidos os critérios da Lei Federal de Biossegurança n. 11.105, de 24 de março de 2005, com base nas informações de triagem clínica e laboratorial realizadas pelo Banco de Células e Tecidos Germinativos (BCTG).

O serviço responsável pela seleção do doador e/ou paciente deve prover todas as informações relativas ao processo de doação, riscos envolvidos, testes laboratoriais, entre outras necessárias para compreensão e assinatura do TCLE, o qual deve ser redigido em linguagem clara e compreensível para o leigo, devendo conter, quando couber, os seguintes itens:

- Informações sobre os riscos ao doador e benefícios ao receptor da doação.
- Informações sobre os testes que serão realizados para a qualificação do doador.
- Autorização para acesso aos dados clínicos e à história médica do doador para obtenção de dados clínicos com importância potencial para o procedimento de pesquisa clínica e/ou terapia.
- Autorização para o Laboratório de Tecnologia Celular transferir os dados qualitativos e quantitativos sobre o material para o responsável pela pesquisa clínica e/ou terapia.
- Autorização para armazenar amostras de células, plasma, soro e DNA do doador para testes que se fizerem necessários no futuro.
- Autorização para descartar as unidades que não atenderem aos critérios para armazenamento ou seu uso posterior em pesquisa clínica e/ou terapia.

Coleta do material

A coleta de material biológico para posterior processamento de células humanas e seus derivados, seja para uso alogênico ou autólogo, deve ser realizada por profissional devidamente capacitado para tal atividade. A coleta deve ser realizada em estabelecimento assistencial de saúde que possua licença sanitária, devendo ser mantidas as condições assépticas necessárias.

Condições específicas da coleta devem estar descritas em POP, com instruções escritas e atualizadas.

O material biológico deve ser encaminhado juntamente com um relatório de coleta devidamente padronizado pelo serviço responsável pela coleta. Esse relatório de coleta deve conter, no mínimo, as seguintes informações:

- Nome e RG do paciente doador.
- Dados clínico-laboratoriais.
- Data e hora da coleta.
- Responsável pela coleta.
- Descrição do procedimento.
- Temperatura de armazenamento do material biológico para transporte.
- Resultado dos exames sorológicos, caso houver.
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Processamento e armazenamento

Todo material biológico humano é potencialmente infeccioso, devendo, portanto, ser manipulado conforme as normas de biossegurança aplicáveis. Todas as etapas do processamento devem estar informadas em instruções escritas e atualizadas, com protocolos definidos e validados, atendendo as especificações descritas na Legislação vigente.

Os protocolos de processamento devem impossibilitar a contaminação cruzada e a troca de material. Deve-se assegurar a limpeza e a assepsia da sala de processamento e de seus equipamentos em cada processamento. A manipulação e a exposição do material biológico e dos materiais, reagentes e produtos para diagnóstico *in vitro* durante o processamento devem ocorrer, exclusivamente, em ambiente classificado. Todos os materiais biológicos que forem submetidos ao processo de cultivo, manipulação extensa ou criopreservação previamente ao seu uso em terapia celular, devem ter amostragem representativa criopreservada e armazenada nas mesmas condições, destinada ao uso nos testes de controle de qualida-

de de processo. O número de amostras preparadas deve ser suficiente para a realização dos testes de controle de qualidade necessários para liberação do uso do material biológico e para controle de qualidade futuro, caso sejam necessárias análises complementares.

Como visto anteriormente, o processamento dos produtos medicinais em terapia avançada deve ser realizado em ambiente classificado (salas biolimpas), portanto, os operadores devem ter alguns cuidados ao entrarem nesses ambientes, de modo a manter sua classificação e evitar contaminação do produto final. Algumas boas práticas que devem ser adotadas são:

- Higiene pessoal.
- Não usar maquiagem ou joias.
- Lavagem das mãos.
- Paramentação com roupa cirúrgica, sapato cirúrgico, avental, máscara, touca e pro-pé descartáveis.
- Utilização de luvas sem talco.
- Não comer, beber, fumar ou mascar chiclete.
- Evitar a retirada da máscara.
- Evitar movimentos bruscos.
- Utilizar papéis-tecido que não soltem partículas para a limpeza de fluxos laminares ou de materiais, equipamentos e bancadas.
- Utilizar os EPIs e EPCs adequados.
- Seguir, rigorosamente, o POP.
- Registrar todo o procedimento.

O armazenamento deve ser realizado em condições controladas que garantam a manutenção das características biológicas do produto, de preferência, em tanques de nitrogênio líquido com temperatura igual ou inferior a 190°C negativos. A sala de criopreservação e armazenamento deve contar com:

- Visualização externa do seu interior.
- Sistema de exaustão mecânica, para diluição dos traços residuais de nitrogênio, que promova a exaustão forçada de todo o ar da sala de criopreservação e armazenamento, com descarga para o ambiente externo do prédio.
- Sensor do nível de oxigênio ambiental com alarmes sonoro e visual, interno e externo à sala de criopreservação e armazenamento.
- Alarmes sonoro e visual, interno e externo apara a sala de criopreservação e armazenamento, que alertem para possíveis falhas no suprimento de nitrogênio líquido e/ou do equipamento de armazenamento.
- Termômetro para monitoramento de temperatura ambiental, que indique valores máximos e mínimos.

Controle de qualidade

O controle de qualidade de produtos acabados baseia-se nas especificações estabelecidas para cada material, de acordo com as normas oficiais vigentes. São redigidas especificações adequadas, de forma precisa, completa, com detalhes específicos dos métodos de ensaios, tipo de instrumento a ser utilizado e métodos de amostragem.

Antes de liberar as células humanas e seus derivados para uso em pesquisa clínica e/ou em terapia, seja para uso autólogo ou alogênico, cultivadas ou não, a fresco ou criopreservadas, com ou sem manipulação extensa, deve-se garantir sua segurança e qualidade. Os requisitos mínimos para a garantia de segurança e qualidade das células humanas e seus derivados são:

- Testes microbiológicos.
- Testes laboratoriais para detecção de doenças infecto-contagiosas no paciente/doador.
- Testes de pirogenicidade.
- Contagem e viabilidade celular.
- Fenotipagem celular, quando couber.
- Controle genético, que deve ser realizado em células submetidas à cultura e expansão ou células modificadas geneticamente e/ou por transdução de proteínas.
- Teste funcional, quando couber.
- Identificação dos antígenos de histocompatibilidade (HLA), quando couber.

Os resultados desses testes de controle de qualidade devem ser anexados ao prontuário clínico do doador/paciente.

Liberação para uso e transporte

O acondicionamento dos produtos medicinais em terapia avançada para pesquisa clínica e/ou terapia deve ser realizado em embalagens de uso final. O CTC deve fornecer informações sobre as condições para recebimento do material biológico, sua utilização e ocorrência de efeitos inesperados ou indesejáveis na utilização do material biológico, além de emitir um certificado comprovando a qualificação dos produtos para uso em pesquisa clínica e/ou terapia contendo, no mínimo, os seguintes itens:

- Identificação do CTC.
- Endereço e telefone do CTC.
- Identificação do responsável técnico e seu número de registro no respectivo conselho profissional regional.

- Identificação do profissional que liberou o exame e seu número de registro no respectivo conselho profissional regional.
- Nome e número de registro da identificação do doador ou receptor gerado pelo CTC.
- Data de emissão do laudo.
- Identificação do procedimento realizado.
- Comprovação da qualificação do material.
- Observações e informações pertinentes, quando aplicável.

O transporte desses produtos medicinais para terapia avançada deve atender à legislação vigente, às normas de biossegurança e às exigências técnicas relacionadas à sua conservação. Todas as operações do processo de transporte, incluindo, entre outras etapas, as condições de acondicionamento, embalagem, transferência do material, armazenamento temporário, limpeza e manutenção dos equipamentos e veículos, devem ser padronizadas por meio de instruções escritas e atualizadas, as quais devem ser validadas e registradas. Esse transporte deve ser acompanhado por um documento que contenha, no mínimo, as seguintes informações:

- Nome do Centro de Tecnologia Celular.
- Remetente e do serviço de destino, incluindo endereços e telefones.
- Telefone de emergência e contato, caso haja algum problema durante o percurso do transporte.
- Quantidade de células humanas e seus derivados transportados, em número total e quantidade fracionada (embalada).
- Nome do paciente receptor e do médico responsável.
- Data e hora do transporte e nome do responsável pelo transporte.
- Tempo de validade do material, mantido nas condições de transporte (na embalagem enviada e não violada).

Os produtos medicinais em terapia avançada devem ser transportados por profissional devidamente capacitado. As embalagens, a rotulagem e as sinalizações utilizadas no transporte de células humanas e seus derivados devem seguir as especificações da legislação vigente, de forma a garantir a estabilidade e a integridade do material, assim como a segurança das pessoas e do ambiente.

As embalagens que contêm gelo seco, nitrogênio líquido, líquido criogênico, gás não inflamável ou outro material de conservação e preservação, que ofereça riscos durante o processo de transporte, devem estar sinalizadas externamente, de acordo com as normas nacionais e internacionais para transporte de produtos perigosos.

O transporte de órgãos, células humanas e seus derivados, após coleta ou processamento, deve ser realizado em recipiente isotérmico resistente e com tampa que disponha de sistema de monitoramento e registro da temperatura interna.

É importante ressaltar que, como está sendo realizado o transporte de material biológico, é expressamente proibido submeter o recipiente à radiação, portanto, no lado externo do recipiente isotérmico, deve constar o seguinte aviso: "MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO. NÃO SUBMETER À RADIAÇÃO (RAIOS X)".

Registros e arquivos

Como descrito anteriormente, a documentação deve possibilitar o rastreamento de informações para investigação de qualquer suspeita de desvio de qualidade. Dessa forma, é necessário dispor de um sistema de registro que permita a rastreabilidade das células humanas e de seus derivados, desde sua obtenção até seu destino final, incluindo-se sua análise laboratorial.

Todos os registros referentes aos produtos medicinais em terapia avançada, coleta ou recebimento de material biológico, processamento e armazenamento de material biológico, dados brutos, cópias dos laudos liberados e procedimentos relacionados ao controle e garantia da qualidade realizados devem ser arquivados por um período mínimo de cinco anos. Os prontuários clínicos devem ser arquivados por um período mínimo de 20 anos sob responsabilidade do médico (ou da instituição) responsável pelo paciente que receber produtos medicinais em terapia avançada. Todos os registros devem ser de caráter confidencial.

Sistemas auxiliares

Sistema de tratamento de água

A água utilizada na manipulação de produtos é considerada matéria-prima produzida pelo laboratório, devendo-se proteger as instalações e os reservatórios para evitar contaminações. Deve-se possuir um sistema para produção de água purificada, que atenda as especificações definidas nas farmacopeias adotadas pelo Ministério da Saúde.

É necessário dispor de pessoal capacitado para operar o sistema. Todas as atividades executadas no Sistema de Tratamento de Água devem constar dos POPs, contemplando, também, a sanitização, os testes físico-químicos e microbiológicos, além da manutenção e validação do sistema com registros.

Segurança e tratamento de resíduos

Como as normas de biossegurança englobam todas as medidas que visam evitar riscos à saúde do homem e dos animais, à preservação do meio ambiente e à qualidade dos resultados, é muito importante endereçar o tratamento dos resíduos gerados. De modo geral, os resíduos são classificados como recuperáveis (papel, metal, vidro, plástico, madeira) e não recuperáveis (produtos farmacêuticos e biológicos).

O descarte de resíduos não recuperáveis deve estar de acordo com o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) aprovado pelos órgãos competentes, devendo ser realizado de acordo com as normas vigentes. As substâncias e produtos considerados resíduos não recuperáveis devem ser neutralizados e enviados por meio de uma ordem de seguimento, e transportados por veículo autorizado externo, até o destino, para sua destruição.

Quanto à segurança, é importante a existência de um programa de ações contra incêndio periodicamente reciclada a título de primeira intervenção. Além de um fluxograma destinado a monitorar a segurança dos locais, equipamentos, acesso de estranhos, ações no caso de emergências com produtos, evacuação, derrames, incêndios e explosões, problemas com as águas residuais, dentre outros.

POLÍTICAS RELEVANTES EM TECNOLOGIA CELULAR NO BRASIL

Constituição Federal de 1988, art. 199

Veda todo tipo de comercialização de órgãos, tecidos e substâncias humanas para fins de transplante, pesquisa e tratamento.

Conselho Federal de Medicina (CFM), Resolução n. 1.358 de 1992

Proíbe destruir embriões, mas faculta a doação altruísta e anônima para outros casais com responsabilidade da Unidade de Reprodução Assistida para a escolha de doadores.

Lei de Biossegurança (Lei n. 8.974) e criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) 1995

Regulamenta os transgênicos, a terapia gênica e genômica, e no art. 6: a proibição de "produção, armazenamento ou manipulação de embriões humanos destinados a servir como material biológico disponível". Cria-se a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), para o acompanhamento das atividades reguladas pela Lei.

Lei de Propriedade Industrial (LPI) – Lei n. 9.279, de 1996

Respeito à interface da LPI n. 9.279/96, com as invenções relacionadas a células-tronco, pode-se dizer que esta considera patenteável toda invenção que atenda aos requisitos de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial. Entretanto, a mesma lei não reconhece como invenção os métodos terapêuticos para aplicação no corpo humano ou animal, envolvendo, ou não, células-tronco, nem o todo ou parte de seres vivos naturais e materiais biológicos encontrados na natureza, ainda que dela isolados.

Resolução n. 19.610, de 1996, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), MS

Diretrizes e normas regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos. Estabelece instrumento obrigatório para pesquisas: Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) a ser preenchido por pacientes ou seus responsáveis.

Lei de Direito Autoral (n. 9.610), de 19.2.1998

Protege obras intelectuais como "criações do espírito", expressas por qualquer meio ou suporte, tangível ou intangível, conhecido ou futuro. Nas ciências, protege-se a forma literária ou artística, não abrangendo o seu conteúdo científico ou técnico. Não são objeto de proteção como direitos autorais as informações de uso comum nem o aproveitamento industrial ou comercial das ideias contidas nas obras.

Resolução RDC n. 50, de 21.2.2002

Determina normas técnicas sobre infraestrutura física, contemplando programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.

Resolução RDC n. 190, de 18.7.2003

Determina normas técnicas para o funcionamento dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário.

Resolução RDC n. 210, de 4.8.2003

Determina normas técnicas sobre as Boas Práticas de Fabricação de medicamentos.

Lei de Inovação (n. 10.973), de 2.12.2004

Regulamenta a relação de universidades e instituições de pesquisa com empresas. Baseada no *Baeh Dole Act* (Patent and Trademark Act, 198, Estados Unidos), promove as patentes sobre resultados de pesquisa desenvolvidos com recursos públicos e fomenta a criação de empresas SMEs e *spin-offs* de base científica e tecnológica. Estabelece a forma como serão divididos os benefícios oriundos do licenciamento de tecnologias protegidas por patentes, tecnologias essas que tenham sido desenvolvidas conjuntamente por empresas e universidades/pesquisadores. Respeito à interface da LPI n. 9.279/96, com as invenções relacionadas a células-tronco, pode-se dizer que esta considera patenteável toda invenção que atenda aos requisitos de novidade, atividade inventiva e aplicação industrial. Entretanto, a lei não reconhece como invenção os métodos terapêuticos para aplicação no corpo humano ou animal, envolvendo ou não células-tronco, nem o todo ou parte de seres vivos naturais e materiais biológicos encontrados na natureza, ainda que dela isolados.

Resolução RDC n. 306, de 7.12.2004

Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

Lei do Bem (n. 11.196) de 2005

Consolida a concessão de incentivos fiscais e subvenções econômicas para contratações de mestres e doutores nas empresas com P&D de produtos inovadores (regulamentada pela Portaria n. 577 do MCT).

Lei de Biossegurança, de 24.3.2005

Lei n. 11.105. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225, da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS), reestrutura a CTNBio, dispõe sobre a PNB, revoga a Lei n. 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória n. 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei n. 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências.

Resolução da diretoria colegiada RDC n. 33, de 17.2.2006

Aprova o regulamento técnico para o funcionamento dos bancos de células e tecidos germinativos. Dispõe sobre a coleta, o transporte, o registro, o processamento, o armazenamento, o descarte e a liberação de células germinativas, tecidos germinativos e embriões humanos com finalidade de reprodução humana assistida.

Resolução da diretoria colegiada RDC n. 214, de 12.12.2006

Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para uso humano.

Resolução RDC n. 56, de 16.12.2010

Dispõe sobre a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de células-tronco hematopoiéticas obtidas de medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão-umbilical e placentário com finalidade de transplante convencional de células progenitoras hematopoiéticas.

Resolução RDC, n. 9, de 14.3.2011

Dispõe sobre o funcionamento dos CTC para fins de pesquisa clínica e terapia e dá outras providências.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anvisa. RDC n. 9 de 14 de março de 2011.
2. Belardelli, Filippo et al. Translational research on advanced therapies. Ann. Ist. Super. Sanità. 2011;47:1.
3. Commission of the European Communities. Directive 2004/23/ EC of European Parliament and the Council of March 2004 on Setting standards of quality and safety for donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. OJ EC L. 2004;102:48-58.
4. Draft Guidance for Industry – Minimally manipulated, unrelated, allogeneic placental/umbilical cord blood intended for hematopoietic reconstitution in patients with hematological malignancies – U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research December 2006.
5. EudraLex Volume 4 – EU Guidelines to Good Manufacturing Practice – Medicinal Products for Human and Veterinary Use – Annex 1 – Manufacture of Sterile Medicinal Products – February/2008.
6. Food and Drug Administration, HHS. Current good tissue practice for human cell, tissue, and cellular and tissue-based product establishments; inspection and enforcement. Final rule. Fed Regist. 2004;69(226):68611-88.
7. Food and Drug Administration. Guidance for Industry – Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice. September/2004.
8. Karl-Heinz, Lotz. Exigências de GMP para sistemas de ar-condicionado e salas limpas. Tradução: Eduardo Al-

meida Lopes SBCC 21 março/abril 2002; 16-21. Disponível em: http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2007/07ArtigoTecnico%20GMP.pdf. Acesso em 20 de maio de 2011.
9. Kohn DB, Candotti F. Gene therapy fulfilling its promise. N Engl J Med. 2009;360:518-21.
10. Krippner, Elisa. Classificação de áreas limpas. Coordenadora do Núcleo Científico da SBCC e Gerente de Validação da SPL Engenharia, Artigo Técnico Revista SBCC 2009; 42-45. Disponível em http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2044/42.classificacao.pdf. Acesso em 20 de maio de 2011.
11. Niehans, P. Forty-two years of cellular therapy. Ott Verlag Thun, 1955.
12. Niehans, P. Introduction to cellular therapy. Ott Verlag Thun, 1960.
13. Relatório de workshop "Paradigmas para a Regulação de Produtos Derivados de Células e Tecidos Humanos". Data do evento: 30 de junho, 1° e 2 de julho de 2010. Local: Anvisa, Brasília, 20/09/2010.
14. Transplante de Medula Óssea. Disponível em: http://www.tmobr.com.br/index.html. Acesso em 20 de Maio de 2011.
15. WHO TRS 902 – 2002 – Annex 6 – Good Manufacturing Practices for Sterile Products.

capítulo 16

Biossegurança em centros de tecnologia celular

Lygia da Veiga Pereira
Juliana Andréa de Oliveira Georges

INTRODUÇÃO

A terapia celular pretende gerar, no laboratório, células de diferentes órgãos/tecidos que, quando transplantadas, promovem a regeneração deles no paciente. Nesse contexto, as células mais adequadas para esse fim são denominadas células-tronco (CT), que apresentam capacidade prolongada e ilimitada de proliferação, e são capazes de gerar descendentes mais especializados. As CT podem ser divididas em dois grandes grupos: as adultas e as embrionárias.

Neste capítulo, serão discutidas as características específicas e as aplicações das CT adultas e embrionárias, assim como os aspectos de biosseguranca envolvidos na geração, na produção e no uso desses tipos celulares.

CÉLULAS-TRONCO ADULTAS

As CT que conhecemos há mais tempo são as CT hematopoiéticas da medula óssea, que dão origem a todos os tipos de células que compõem o sangue. Desde a década de 1950, são realizados transplantes de CT da medula óssea para o tratamento de doenças hematológicas, com o intuito de substituir o tecido hematopoiético deficiente de um paciente pelo de um doador saudável. Porém, somente no final da década de 1990, a partir de experimentos em modelos animais, começaram a surgir evidências de que, na medula óssea, existem também outros tipos de CT capazes de regenerar órgãos como o coração, o fígado e até o sistema nervoso[1]. Esses achados deram início a várias pesquisas para o desenvolvimento de novas terapias com células da medula óssea para doenças comuns, como infarto, diabetes, cirrose hepática e lesão de medula espinal[2]. Além disso, como os transplantes de medula óssea são realizados há décadas, sabe-se que o uso dessas células é seguro, e, assim, os testes clínicos de terapia celular em seres humanos logo tiveram início também.

A pesquisa da palavra-chave "*stem cell*" (célula-tronco) no registro do governo norte-americano[3] apresenta um grande número de testes clínicos com CT para o tratamento de doenças não hematológicas (Quadro 1). Alguns desses estudos, como os de epilepsia e acidente vascular encefálico, ainda estão em fase inicial, enquanto outros, como os de doenças cardíacas, já se encontram em estágios mais avançados, nos quais a segurança do procedimento já foi verificada. O objetivo dessas análises é demonstrar a sua eficácia em um grande número de pacientes.

Além da medula óssea, outras fontes de CT adultas têm sido utilizadas, como o sangue do cordão umbilical e da placenta (SCUP), o tecido adiposo, a placenta, a polpa do dente e a veia do cordão umbilical. Por enquanto, o SCUP é a única fonte alternativa de CT adultas cujo uso clínico já está consolidado para doenças tradicionalmente tratadas por transplante de medula óssea[4]. Para o tratamento de doenças mais comuns, o SCUP segue em fase de testes clínicos junto com as CT da medula.

Uma classe especial de CT adultas são as neurais, provenientes do cérebro, que podem dar origem a todos os tipos de células encontradas no sistema nervoso. As

Quadro 1. Ensaios clínicos registrados de terapia com CT adultas*

Doença	Número de ensaios clínicos em andamento	
	No mundo	No Brasil
Cardiopatias	101	6
Diabetes	18	1
Isquemia de membros	16	1
Lúpus eritematoso	8	
Acidente vascular encefálico	6	1
Esclerose múltipla	6	
Cirrose hepática	4	1
Doença de Parkinson	2	
Doença de Alzheimer	1	
Lesão de medula espinal	1	
Epilepsia	1	1
Enfisema	0	1

*CT provenientes de medula óssea, sangue de cordão umbilical e placenta, tecido adiposo e cordão umbilical.

CT cerebrais possuem grande potencial para o tratamento de várias doenças neurológicas, como a doença de Parkinson. Alguns testes clínicos com esse tipo de células estão em andamento, entre eles, dois estudam as doenças genéticas neurodegenerativas de Pelizaeus-Merzbacher e de Batten (StemCells Inc., Estados Unidos), e um analisa o acidente vascular encefálico (Reneuron, Reino Unido).

As pesquisas com as CT adultas já estão bem avançadas em modelos animais para aplicação potencial em várias doenças humanas. Porém, é fundamental ficar claro que esse tipo de terapia ainda está restrito ao âmbito da pesquisa.

CÉLULAS-TRONCO EMBRIONÁRIAS

Identificadas no início dos anos 1980 em camundongos, as CT embrionárias são extraídas de blastocistos (embriões pré-implantação) compostos de dois tipos de células: as que originam a placenta e as que produzem todos os tecidos do indivíduo adulto – as células do botão embrionário[5] (Figura 1). Estas são retiradas do embrião e cultivadas no laboratório em condições especiais, de forma a manter sua pluripotência, ou seja, sua capacidade de se diferenciar em tecidos dos três folhetos embrionários: endoderma, ectoderma e mesoderma.

Quando injetadas em camundongos imunodeficientes, as CT embrionárias iniciam um processo desorganizado de diferenciação, dando origem a teratomas e tumores compostos de tecidos derivados dos três folhetos embrionários, demonstrando, assim, a pluripotência dessas células. É importante salientar que as CT embrionárias são capazes de originar todos os tipos de célula do corpo humano, enquanto as CT adultas podem produzir somente alguns tipos.

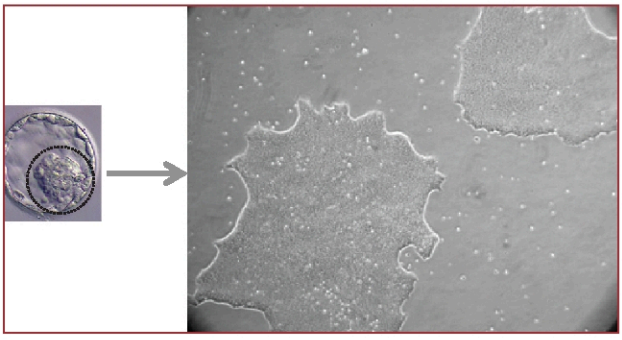


Figura 1. CT embrionárias. À esquerda, blastocisto humano com massa celular interna (MCI) aparente (círculo). À direita, duas colônias de CT embrionárias humanas indiferenciadas, cultivadas a partir da MCI.

Para o uso das CT embrionárias como fonte de tecidos para transplantes, é necessário, ainda *in vitro*, dirigir a sua diferenciação para os tipos celulares desejados. Nos quase 30 anos de pesquisas com CT embrionárias, descobriu-se como cultivá-las e diferenciá-las em células da medula óssea e do músculo cardíaco, em neurônios, entre outras. Ao serem transplantadas em animais com alguma enfermidade, as células derivadas das CT embrionárias são capazes de aliviar os sintomas de diversas doenças, desde leucemia e doença de Parkinson até paralisia causada por lesão de medula espinal[6].

Em 1998, surgiram as primeiras linhagens de CT embrionárias derivadas de embriões humanos, que, da mesma forma que as de camundongo, têm um efeito terapêutico importante em modelos animais de diversas doenças[7]. Porém, antes de iniciarem os testes clínicos de transplante de células derivadas de CT embrionárias em seres humanos, algumas questões fundamentais deveriam ser resolvidas.

A primeira diz respeito à segurança da utilização dessas células. Sabemos que quando injetadas em animais imunodeficientes, as CT embrionárias não diferenciadas formam teratomas. Por isso, todas as estratégias de uso terapêutico dessas células envolvem sua diferenciação *in vitro* no tipo celular desejado, de acordo com a doença a ser tratada. Porém, com frequência, o processo de diferenciação não é 100% eficiente, gerando uma fração de células ainda não diferenciadas que podem se comportar de forma descontrolada no organismo. Assim, é necessário desenvolver protocolos robustos de diferenciação das CT embrionárias, de forma que os tecidos gerados a partir delas não contenham células ainda indiferenciadas que possam dar origem a tumores nos pacientes.

A segunda questão fundamental diz respeito à compatibilidade entre as CT embrionárias e os tecidos do paciente. Para qualquer transplante, deve haver compatibilidade entre doador e receptor, de modo que o órgão não seja rejeitado. Pode se esperar esse tipo de compatibilidade para o transplante de CT embrionárias? Na verdade, ainda não se sabe quanto ou se os tecidos derivados das CT embrionárias induzirão uma resposta imunológica do paciente[6]. E se houver necessidade de compatibilidade entre as CT embrionárias e os tecidos do paciente? Uma solução seria criar um banco dessas células, cada uma derivada de um embrião diferente, de forma a encontrar uma compatível com o paciente. Vários países têm adotado essa estratégia[7,8]. Notem que, com as CT adultas, em geral, as terapias são feitas com células do próprio paciente, e, assim, não existe rejeição.

Finalmente, o outro obstáculo a se vencer para tornar as CT embrionárias uma realidade terapêutica é a polêmica em torno da destruição de embriões humanos. No Brasil, a discussão foi resolvida com a Lei de Biossegurança, promulgada em 24 de março de 2005, que permite o uso, para pesquisa e terapia, de embriões produzidos para fins reprodutivos, doados com o consentimento dos pais, e que estejam congelados há pelo menos 3 anos. Essa legislação permitiu o desenvolvimento das pesquisas com CT embrionárias no país, e, em 2008, foi estabelecida a primeira linhagem de CT embrionárias humanas brasileiras, chamada BR-1, proporcionando autonomia para o desenvolvimento de terapias com essas células[8].

O primeiro teste clínico com células derivadas de CT embrionárias teve início em 2010. Após três anos de testes exaustivos em modelos animais, a empresa Geron obteve permissão para injetar oligodendrócitos derivados de CT embrionárias em pacientes com lesão de medula espinal [9]. Os primeiros pacientes foram tratados no final de 2010 e os objetivos principais do experimento foram verificar a segurança das células produzidas (i. e., se não formaram tumores) e a resposta imunológica dos pacientes. O segundo teste clínico aprovado nos EUA será conduzido pela empresa Advanced Cell Technologies, que tratará pacientes com um tipo de degeneração da mácula utilizando células de retina produzidas a partir de CT embrionárias[10].

CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS

Desenvolvidas no Japão em 2006, as denominadas CT pluripotentes induzidas (iPSC) são produzidas a partir de células da pele ou do sangue, nas quais são inseridos genes ou proteínas características de CT embrionárias[11]. Essas modificações genéticas induzem a reprogramação da célula, que regride a um estágio de célula pluripotente, equivalente a uma CT embrionária.

A tecnologia de produção de iPSC foi uma revolução na área de pesquisa em CT. Por ser o processo mais simples de obtenção de CT pluripotentes, foi adotado com rapidez por dezenas de laboratórios no mundo todo. No entanto, além de o risco de gerar tumores ser equivalente ao das CT embrionárias, as iPSC são ainda menos seguras para terapias por serem geneticamente modificadas. Assim, por enquanto, essas células pluripotentes são mais exploradas como ferramenta de pesquisa do que como fonte de tecidos para transplante.

As iPSC geradas a partir de células de pacientes com diferentes doenças genéticas auxiliam o entendimento dos mecanismos moleculares dessas doenças. Por exemplo, recentemente, um grupo de pesquisa dos Estados Unidos produziu neurônios a partir de iPSC de pacientes com esclerose lateral amiotrófica e descobriu um novo mecanismo fisiopatológico dessa doença neurodegenerativa[12]. A partir desses estudos, as iPSC poderão também ser utilizadas para identificar e experimentar novas drogas que melhorem a funcionalidade *in vitro* dos neurônios afetados, antes de as testar nos pacientes.

Estratégias semelhantes vêm sendo desenvolvidas para outras doenças, com iPSC geradas a partir de células de pacientes com síndrome de Down, doença de Parkinson e diabetes, entre outras. Assim, as iPSC são uma poderosa ferramenta para a pesquisa básica e aplicada, servindo como uma plataforma de identificação e validação de novas drogas *in vitro* (Figura 2).

REDE NACIONAL DE TERAPIA CELULAR

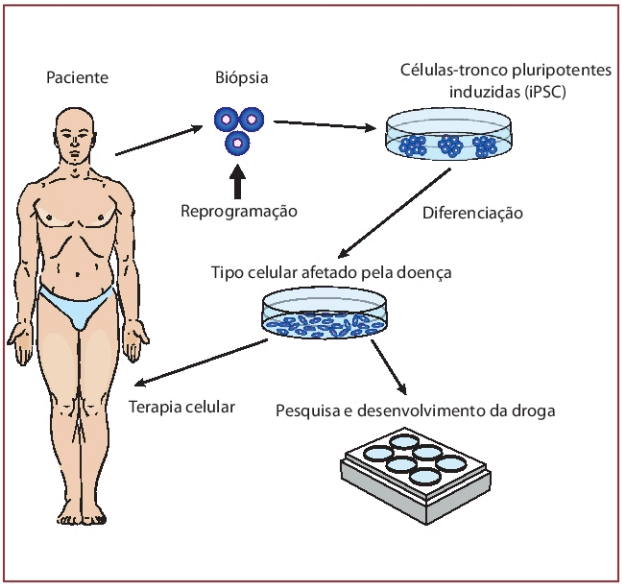


Figura 2. CT iPSC. Células somáticas de um paciente são cultivadas e reprogramadas em iPSC. Estas podem ser diferenciadas em tipos celulares relevantes para a doença em questão e aquelas usadas para terapia ou pesquisa.

No Brasil, os Ministérios da Saúde e da Ciência e Tecnologia estão investindo ainda mais nas pesquisas com CT, criando a Rede Nacional de Terapia Celular[13] com o objetivo de estruturar o esforço nacional de pesquisa em terapia celular, ampliar a geração de conhecimento por meio de uma maior interação entre a comunidade científica e qualificar os novos profissionais. Dessa rede participam oito laboratórios de produção de diferentes tipos de CT. Entre eles, está o Laboratório Nacional de Células-tronco Embrionárias (LaNCE), dedicado às pesquisas com CT pluripotentes, embrionárias e iPSC, para futura disponibilização dessas células para a terapia celular pelo sistema público de saúde.

CENTROS DE TECNOLOGIA CELULAR

Transfusões de sangue e transplantes de medula óssea e/ou sangue de cordão umbilical são regidos por normas específicas. Porém, à medida que as terapias celulares evoluem da pesquisa básica e dos ensaios pré-clínicos para os testes clínicos, e que se amplia a diversidade de fontes de células, como as CT, e de procedimentos para terapia, é necessária a elaboração de normas sanitárias e de biossegurança para a produção de células em condições adequadas para uso em seres humanos.

Terapias com CT podem ser divididas em duas grandes classes, de acordo com a extensão de manipulações, às quais as células são submetidas: terapias com células isoladas de algum tecido (medula óssea, tecido adiposo, SCUP) e logo (ou após criopreservação e posterior descongelamento) transplantadas para o paciente; e terapias com células isoladas e cultivadas *in vitro*, com a finalidade de expansão e/ou diferenciação delas em algum tipo celular específico (Figura 3). Os dois grupos envolvem riscos distintos de contaminação do produto celular e, assim, devem ser tratados separadamente.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em sua resolução RDC n. 9 de 14/3/2011, definiu como centro de tecnologia celular (CTC) o "serviço que, com instalações físicas, recursos humanos, equipamentos, materiais, reagentes e produtos para diagnóstico de uso *in vitro* e metodologias, realiza atividades voltadas à utilização de células humanas, inclusive seus derivados, em pesquisa clínica e/ou terapia" [14]. Os CTC são classificados em tipos 1 e 2.

O CTC tipo 1 é um centro que trabalha exclusivamente com CT adultas e autólogas, em procedimentos

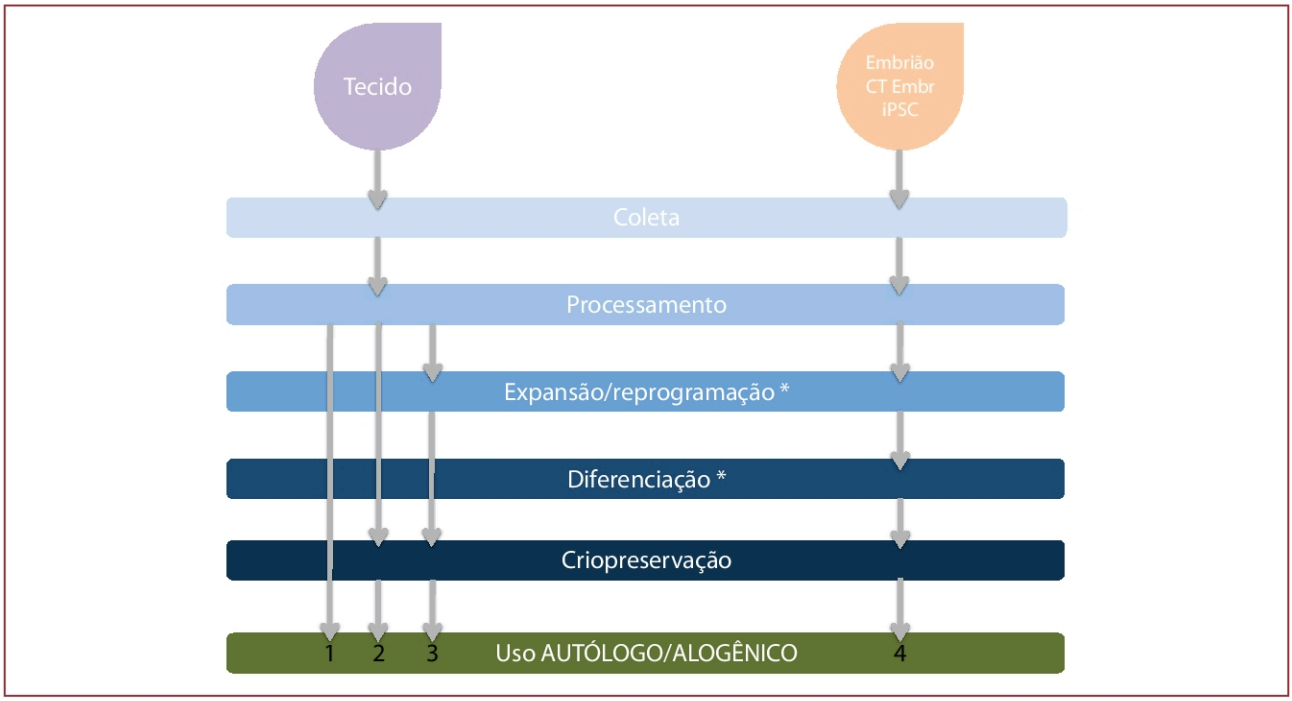


Figura 3. As etapas da terapia celular. Dependendo da fonte de células a ser usada (tecidos ou células pluripotentes, incluindo CT embrionárias e iPSC), existem diferentes passos até o uso terapêutico das células. Dependendo do tecido, as células podem ser processadas a partir do tecido coletado (por exemplo, medula óssea ou sangue de cordão umbilical), e imediatamente (1) ou após criopreservação (2) serem utilizadas em terapia (à esquerda). Essas mesmas células podem ainda ser expandidas em cultura antes da criopreservação e do uso terapêutico (3). Já no caso de CT pluripotentes (à direita), elas precisam ser processadas, expandidas, reprogramadas (no caso das iPSC), diferenciadas no tipo celular desejado e então utilizadas em terapias (4). Etapas que requerem extensa manipulação *in vitro* das células estão marcadas com (*).

que não envolvam seu cultivo – as células podem ser processadas, purificadas, e até criopreservadas, porém sem serem submetidas ao cultivo *in vitro*. Um exemplo de CTC tipo 1 são os laboratórios que recebem aspirados de medula óssea para ensaios clínicos em cardiologia – a fração mononuclear é purificada e imediatamente encaminhada à sala de cirurgia para ser injetada no paciente. Outro exemplo é um banco de CT de SCUP, que recebe o SCUP, também purifica a fração mononuclear e criopreserva o material em nitrogênio líquido para uso futuro. Vale salientar que, apesar de se encaixar na definição de CTC tipo1, esse tipo de banco é regido pela RDC n. 56 de 16/12/2010 da Anvisa que trata de células hematopoiéticas[15].

O CTC tipo 2 está apto a trabalhar com qualquer tipo de CT, seja adulta, embrionária, autóloga ou alogênica. Além das atividades de um CTC tipo 1, o tipo 2 pode também cultivar as células *in vitro*, visando à expansão e/ou à diferenciação delas. No que diz respeito às CT embrionárias, o CTC tipo 2 pode receber e armazenar embriões humanos doados para pesquisa e terapia, e cultivá-los até o estágio de blastocisto. Além disso, somente um CTC tipo 2 está apto a gerar as iPSC para uso clínico[14,15].

BIOSSEGURANÇA EM CENTROS DE TECNOLOGIA CELULAR

No que diz respeito às normas de biossegurança, todo CTC deve seguir as normas gerais de segurança de laboratório na área da saúde. Do ponto de vista do pesquisador, cuidados gerais devem ser tomados com produtos de origem humana, visando evitar a contaminação por patógenos. Do ponto de vista do produto celular produzido pelo CTC, a principal preocupação é referente à sua contaminação, e por isso a manipulação e a exposição de material biológico e de materiais, reagentes e produtos durante o processamento deve ocorrer exclusivamente em ambiente classificado como ISO 5 (Classe 100), com capela de fluxo laminar. Além disso, nos CTC tipo 1, o fluxo laminar deve estar instalado em uma sala com classificação mínima ISO 8 (Classe 100.000).

O controle do ambiente nos CTC de tipo 2 deve ser mais rigoroso, uma vez que nesses centros são realizadas extensas manipulações de células, aumentando a chance de elas sofrerem alguma contaminação. Assim, no CTC tipo 2, o fluxo laminar deve estar instalado em uma sala com classificação mínima ISO 7 (Classe 10.000). Além

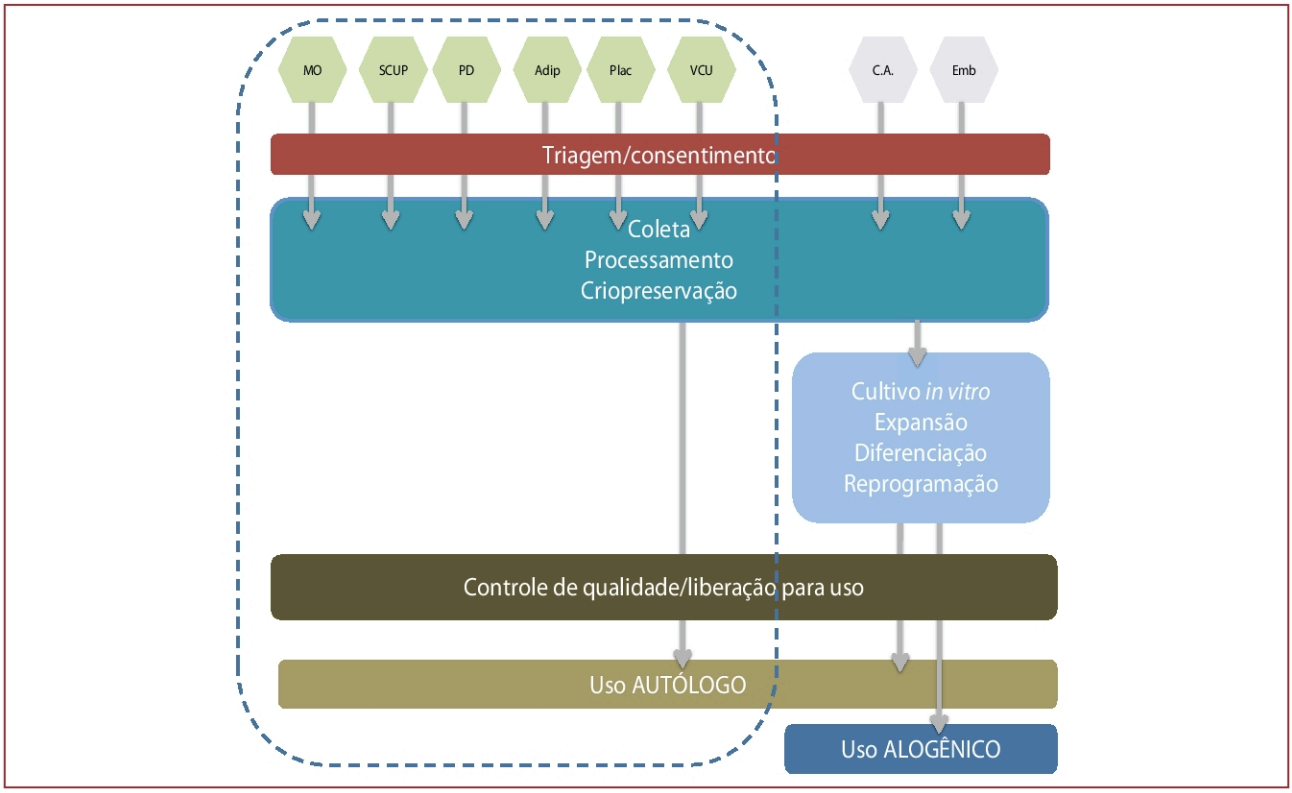


Figura 4. Esquema de funcionamento e diferentes atividades dos centros de tecnologia celular tipos 1 (dentro do pontilhado) e 2 (todos). Diferentes fontes de CT: medula óssea (MO), sangue do cordão umbilical e placentário (SCUP), tecido adiposo (Adip), placenta (Plac), veia do cordão umbilical, células adultas para geração de iPSC (CA) e embriões humanos (Emb). Doadores de material biológico passam por triagem clínica e devem assinar termo de consentimento informado. Após processamento (e cultivo por CTC tipo 2), as células devem passar por controle de qualidade para serem liberadas para uso clínico, autólogo ou alogênico.

disso, aqueles CTC tipo 2 que trabalharem com células modificadas geneticamente (por exemplo, na geração de iPSC) devem ter Certificado de Qualidade em Biossegurança emitido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio).

Na Figura 4, está esquematizado o funcionamento dos CTC. Notem que os CTC tipo 1 realizam somente as atividades dentro da região pontilhada, enquanto os tipo 2 podem realizar todas as atividades listadas. Alguns pontos mais importantes de cada etapa serão discutidos a seguir.

Infraestrutura mínima: os CTC devem ter infraestrutura física de uso e acesso exclusivo para tal finalidade. Se inserido em um laboratório de pesquisa, o CTC deve ter espaços físicos independentes para circulação de pessoas, reagentes e materiais biológicos. É necessária a existência de antecâmara e vestiário de barreira dotado de lavatório e área de paramentação no acesso à sala na qual será processado o material biológico. Deve ser instalado sistema emergencial de energia elétrica. O controle microbiológico de ambientes, equipamentos (incubadora de CO_2) e meios de cultura deve ser realizado.

Reagentes: todos os reagentes utilizados pelos CTC devem ser estéreis, apirogênicos e não citotóxicos, e estar regularizados pela Anvisa. Os CTC devem manter registro de origem, validade e número de lote de todos os reagentes utilizados, de forma a garantir a possibilidade de rastreamento. O uso de produtos de origem animal deve ser evitado, porém, se utilizados, devem ter certificação de ausência de agentes infecciosos e contaminantes.

Seleção de doador/paciente: deve respeitar os preceitos legais e éticos sobre o assunto, ficando garantidos o sigilo, a não percepção de remuneração ou de benefício direto e o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme legislação vigente. Os CTC devem realizar triagem clínica e laboratorial determinada para a doação de sangue (conforme legislação vigente) em doadores e/ou pacientes. A obtenção de embriões ou células-tronco embrionárias deve seguir os critérios da Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005[16], e devem ser obtidas as informações de triagem clínica e laboratorial realizadas pelo banco de células e tecidos germinativos (BCTG), como disposto no regulamento técnico para o funcionamento dos BCTG.

Processamento e armazenamento: para impossibilitar a contaminação cruzada e a troca de material, não é permitido o processamento simultâneo de células humanas e seus derivados de mais de um doador/paciente no mesmo ambiente. A manipulação e a exposição de material biológico e de materiais, reagentes e produtos para diagnóstico *in vitro* durante o processamento deve ocorrer exclusivamente em ambiente classificado como ISO 5 (Classe 100). Todos os materiais biológicos submetidos a cultivo ou criopreservação prévios ao seu uso terapêutico devem ter alíquota representativa criopreservada e armazenada nas mesmas condições, para uso em testes de controle de qualidade de processo. Os CTC devem instalar os tanques de nitrogênio líquido para armazenagem de células em salas de criopreservação com visualização externa do seu interior, sensor do nível de oxigênio ambiental (com alarme visual e sonoro, interno e externo à sala), sistema de exaustão mecânica com descarga para o ambiente externo do prédio, e termômetro com registro de temperaturas ambientais mínima e máxima. Células e derivados com testes microbiológicos positivos ou com resultado reagente em pelo menos um dos marcadores para infecções transmissíveis pelo sangue devem ser armazenados em congelador ou tanque específico, separados das demais unidades com testes negativos, ou deverá ser utilizado um sistema de embalagem externa ou equipamento que garanta a proteção das demais unidades criopreservadas.

Controle de qualidade do produto final: os CTC devem garantir a segurança e a qualidade das células humanas e seus derivados antes de os liberar para uso, realizando, no mínimo: testes microbiológicos; contagem e viabilidade celular; fenotipagem e teste de função celular, quando couber; controle de estabilidade cromossômica para células cultivadas; identificação dos antígenos de histocompatibilidade (HLA), para caso de uso alogênico.

Em conclusão, terapias com células-tronco são uma área em intenso desenvolvimento. Nos últimos anos, assistiu-se ao rápido crescimento da área e ao desenvolvimento de diferentes fontes de células e estratégias de cultivo e terapia. Resta, porém, verificar quais delas passarão pelo rigoroso crivo dos testes clínicos e serão consolidadas de fato como alternativas terapêuticas. As normas de biossegurança aqui descritas ainda oferecem certa flexibilidade, como no que diz respeito ao uso de produtos de origem animal. Essa flexibilidade é fundamental para o avanço de uma ciência ainda em desenvolvimento. Ao mesmo tempo, esses avanços trarão novos conhecimentos que deverão ser incorporados em futuros aperfeiçoamentos das normas de biossegurança para CTC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. Cell. 2001;105:369-77.
2. Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. Stem Cells. 2004;22:487-500.
3. Disponível em: www.clinicaltrials.gov. Acesso em: 06/06/2011.

4. Rubinstein P, Stevens CE. The New York Blood Center's Placental/Umbilical Cord Blood Program. Experience with a 'new' source of hematopoietic stem cells for transplantation. Ernst Schering Res Found Workshop. 2011;33:47-70.
5. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature. 1981;292:154-6.
6. Downing GJ, Battey JF Jr. Technical assessment of the first 20 years of research using mouse embryonic stem cell lines. Stem Cells 2004;22:1168-80.
7. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998;1145-7.
8. Fraga AM, Sukoyan M, Rajan P, Braga DP, Iaconelli A Jr, Franco JG Jr et al. Establishment of a Brazilian line of human embryonic stem cells in defined medium - implications for cell therapy in an ethnically diverse population. Cell Transplantation. 2011;20:431-40.
9. Disponível em: http://www.geron.com. Acesso em: 06/06/2011.
10. Disponível em: http://www.advancedcell.com. Acesso em: 06/06/2011.
11. Yamanaka S. A fresh look at iPS cells. Cell. 2009;137:13-7.
12. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. Science 2008;321:1218-21.
13. Disponível em: http://www.rntc.org.br. Acesso em: 06/06/2011.
14. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 9 de 14 de março de 2011. Diário Oficial da União, Brasília (14 mar 2011).
15. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 56 de 16 de dezembro de 2010. Diário Oficial da União, Brasília (16 dez 2010).
16. Brasil. Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília (28 mar 2005).
17. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. Cell 2004;116:639-84.

capítulo 17

Biossegurança e meio ambiente

Paulo Paes de Andrade
Ederson Akio Kido
Marcia Almeida de Melo

INTRODUÇÃO

As atividades humanas sempre causaram algum impacto negativo sobre o meio ambiente. Quanto mais a humanidade ampliou o leque de tecnologias dominadas e adotadas, maior tornou-se esse impacto, que ocorre desde a alteração do solo e da cobertura vegetal, causados pela agricultura, até o desaparecimento de espécies em razão da alteração radical do ambiente ou da caça predatória, ambas dependentes de tecnologias novas. O processo acelerou-se notavelmente a partir da Revolução Industrial, tanto pela invenção e pelo posterior desenvolvimento de máquinas de todo tipo, como pela introdução de produtos químicos no dia a dia das populações. No século XX, o mau uso de muitas dessas tecnologias (tratores, escavadeiras, perfuratrizes, inseticidas, antibióticos etc.) gerou sérios impactos como a perda dos solos e a contaminação do ambiente com produtos tóxicos, aplicados para controle de pragas ou espalhados na água e na terra por vazamentos acidentais.

No final do século passado, iniciou-se a adoção, desde então sempre crescente, de organismos geneticamente modificados (OGM) na agricultura e nas outras atividades produtivas. A preocupação com o ambiente, gerada pela biotecnologia moderna, é grande, pois é a primeira vez que a humanidade produz organismos que não existiriam de outra forma na natureza, criando apreensão quanto ao escape das modificações genéticas para espécies selvagens e às possíveis modificações associadas ao ambiente relativas à fauna e à flora. A preocupação estende-se também ao comportamento dos próprios OGM em competição com as variedades não modificadas e a biota em geral. A biossegurança, surgida ainda no século XX, é a resposta a essas preocupações; ela constitui um novo ramo da ciência que investiga a forma adequada de avaliar os riscos provenientes da adoção das novas tecnologias e, em especial, da biotecnologia, e propõe abordagens efetivas para a prevenção e a minimização de impactos negativos advindos dessas tecnologias, tanto em atividades em contenção (laboratórios, fábricas, casas de vegetação etc.), quanto em casos de liberação no meio ambiente.

A biossegurança é regulada, em vários países, por um conjunto de leis, procedimentos ou diretivas específicas. No Brasil, a legislação é específica para a biossegurança de OGM e está fundamentada na Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005, em seu decreto correspondente e em um conjunto de resoluções normativas que regulam aspectos específicos da biossegurança de transgênicos, como são também chamados os OGM[1]. Com a definição do arcabouço regulatório, a adoção de plantas transgênicas ganhou impulso a partir de 2005, havendo mais de 26 variedades de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos ou tolerantes a herbicidas, já aprovadas para comercialização no país (Figura 1), e cujo plantio vem ganhando rapidamente a preferência no agronegócio nacional. Além das plantas transgênicas, o país vem adotando os OGM em vacinas, testes diagnósticos e produção de enzimas, hormônios e óleo combustível. Para os próximos anos, espera-se que animais geneticamente modificados sejam também aprovados para uso comercial, tanto na produção de

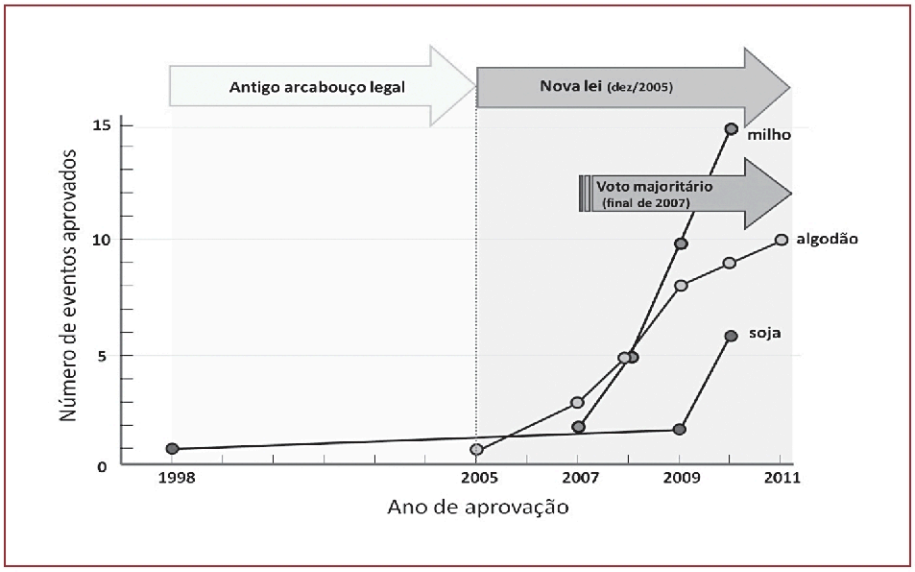


Figura 1. Número de eventos aprovados pela CTNBio para liberação comercial de plantas geneticamente modificadas. Observa-se um aumento inicial do número de variedades aprovadas a partir da nova lei de biossegurança (final de 2005) e uma aceleração acentuada do ritmo de aprovações a partir da adoção da maioria simples de votos em plenária como critério de deferimento dos pedidos de liberação comercial (meados de 2007). Observa-se, também, que o milho teve a adoção mais acelerada entre as três culturas apresentadas.

alimentos e hormônios (suínos, peixes, caprinos) como no controle de endemias (mosquitos), além de novas espécies vegetais como árvores, cana-de-açúcar e culturas importantes para a alimentação do brasileiro, como o arroz e o feijão.

A ANÁLISE DE RISCO EM BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL

Formas como um OGM podem impactar o ambiente – seja ele uma planta, um microrganismo ou um animal –, elas são bastante variadas, ao menos do ponto de vista teórico. Entretanto, quaisquer que sejam os impactos imaginados, eles devem sempre ser comparados com aqueles advindos da presença, em condições semelhantes, da espécie não modificada. Não seria pertinente comparar uma planta geneticamente modificada cultivada em grandes extensões, características do agronegócio, com a mesma planta não modificada cultivada em condições orgânicas; e, da mesma forma, os impactos previstos da criação de um peixe transgênico em tanques-rede com o peixamento de rios com espécimes não modificados.

Aceita-se a premissa mencionada anteriormente, a análise de risco procede em três etapas interdependentes: a avaliação de risco, a gestão de risco e a comunicação de risco. Na Figura 2, a relação entre essas etapas é representada de forma esquemática.

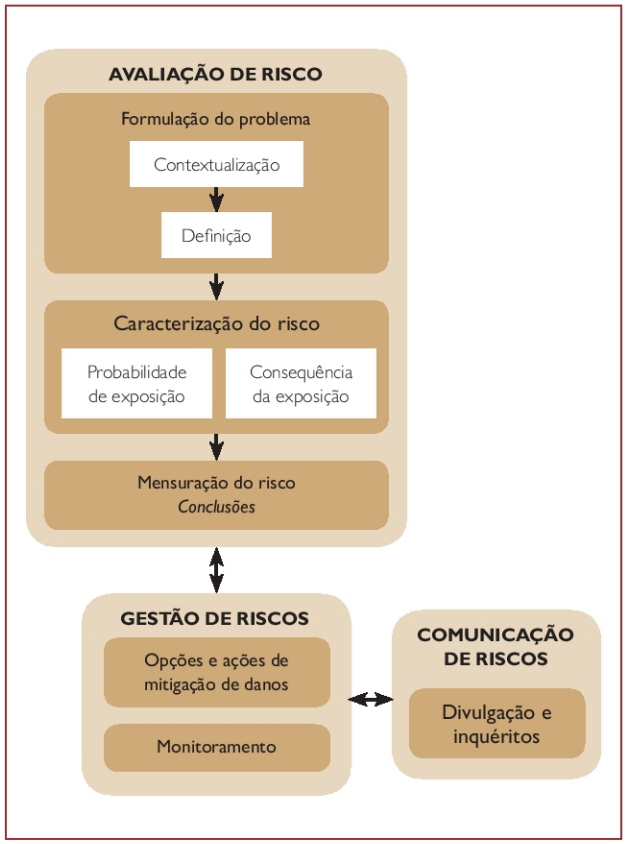


Figura 2. Fluxograma (*roadmap*) de análise de risco, compreendendo a avaliação de risco, a gestão de riscos e a comunicação de riscos.

A análise de risco inicia-se por uma demanda específica dirigida a um produto (por exemplo, uma variedade de soja geneticamente modificada) e envolve, primeiramente, a avaliação de risco. Uma vez concluída essa etapa, avança-se para a gestão de riscos identificados, que, por sua vez, leva à comunicação desses riscos ao público-alvo. A avaliação de risco pode ser retomada se: a) publicações científicas ou relatórios oficiais indicarem novos riscos ou danos efetivos ao ambiente; b) no monitoramento do produto liberado comercialmente, surgirem evidências de danos imprevistos. A gestão de riscos também pode implicar a retomada da avaliação de riscos se, por exemplo, surgirem novas informações sobre riscos ou danos no processo de comunicação de riscos.

De uma forma geral, pode-se dizer que o sucesso da análise de risco depende fortemente da avaliação de risco. Se esta for bem conduzida, as demais etapas poderão ser efetivas, concentrando-se os esforços sobre questões relevantes para a biossegurança ambiental. Caso contrário, o analista ambiental terá que se deparar com danos não antecipados ou terá que devotar a sua atenção a um conjunto de itens a ser monitorado que não envolve riscos efetivos. Essa etapa é a mais crítica em todo processo de análise; de fato, a avaliação de risco e, dentro dela, a formulação do problema são a chave para a biossegurança ambiental, e, por isso, este capítulo tratará primordialmente dessa etapa. Ao final, a biossegurança ambiental será discutida a partir da redução de um problema extremamente complexo e multifacetário a um conjunto de metas e medidas de proteção que pode ser abordado na prática e será efetivo para garantir a proteção ao ambiente e a mitigação de eventuais danos.

A formulação do problema na avaliação de risco ambiental

Como indicado na Figura 2, a formulação do problema é o primeiro passo na avaliação de risco ambiental, quando as metas de proteção deverão ser identificadas. Sendo a avaliação de risco um processo que exige sempre uma abordagem caso a caso, torna-se difícil, se não impossível, ter um roteiro predeterminado para a formulação do problema, que é o cerne da avaliação de risco. Dessa forma, o avaliador deve se debruçar sobre esse passo apenas depois de delinear claramente a metodologia que norteará a identificação de alvos e a definição de ambientes receptores. A formulação do problema, se executada corretamente, garante a relevância dos resultados da avaliação de risco ambiental para a tomada de decisão[2].

A *contextualização*, primeiro elemento da formulação do problema, inclui: a) o arcabouço legal que ampara e regulamenta as atividades com OGM no país e pode determinar alvos de proteção nos âmbitos nacional e regional; b) o ambiente receptor e as atividades humanas relacionadas ao uso do OGM nesses ambientes; c) a biologia do organismo parental não modificado; d) as considerações sobre a construção genética do OGM e suas características biológicas, sobretudo aquelas que podem determinar possíveis alterações de comportamento do OGM na natureza (de formas de reprodução e propagação), além de impactar a biodiversidade. Assim, dependendo dos demais componentes do contexto, um mesmo OGM pode ter um elenco de problemas definidos distintos.

Uma vez definido o contexto, a etapa seguinte é a *definição do problema*, ou seja, a determinação de um conjunto de riscos e danos associados, caso o OGM fosse liberado no ambiente. Esse é um exercício difícil, pois nem todos os riscos identificados serão relevantes para a avaliação de risco. A escolha deve ser norteada, por um lado, por razões teóricas e, por outro, pela experiência prévia de outros países com o OGM em análise. Nessa etapa, contudo, ainda não é necessário estabelecer uma conexão causal cientificamente embasada entre o OGM e o dano esperado. Tampouco é necessário determinar probabilidades de ocorrência. Na prática, uma lista relativamente longa de possíveis riscos é produzida, baseada em alvos de proteção genéricos estabelecidos por lei ou acordos internacionais, ou ainda derivada da experiência com a introdução de outros organismos, modificados ou não, nos ambientes receptores identificados na contextualização.

A caracterização do risco

A etapa seguinte da avaliação de risco, denominada *caracterização do risco*, envolve a definição da *probabilidade da exposição* e um estudo das *consequências da exposição* no contexto previamente definido.

A probabilidade da exposição pode ser prevista em vários casos, mas haverá sempre outros em que um elevado grau de incerteza deverá ser acomodado à avaliação de risco. Por outro lado, as consequências da exposição dependem bastante da exposição. Assim, nessa etapa, as duas ações (quantificação de exposição e determinação das consequências dessa exposição) são, em geral, levadas a cabo simultaneamente. No caso de uma avaliação de risco anterior à liberação comercial, os dados específicos são gerados em experimentos em contenção ou em liberações planejadas. Informações geradas em outros países podem auxiliar muito a tomada de decisão. No caso de produtos já liberados comercialmente, os dados do monitoramento podem auxiliar em uma reavaliação periódica até que os órgãos regulatórios do país estejam satisfeitos e considerem o produto tão seguro quanto seu parental não modificado (ou não transgênico).

Na prática, a partir da lista de riscos gerada na etapa de definição do problema, deve-se filtrá-la à luz da ciência e da experiência prévia (se houver) com o OGM ou os OGM semelhantes. A aplicação desse filtro é complexa porque, baseados em excesso de precaução, alguns avaliadores de risco tendem a não eliminar nenhum dos riscos listados, alegando que a incerteza impede a tomada de decisão. Se uma lista muito extensa de riscos for mantida, a identificação de parâmetros de avaliação de risco será difícil e o processo, muito dispendioso na prática, sem necessariamente haver qualquer retorno em informações relevantes à biossegurança ambiental.

A mensuração do risco

A terceira e última etapa da avaliação de risco é a mensuração do risco: uma vez que os binômios *probabilidade de exposição/danos* foram estabelecidos para os vários riscos listados, resta ainda categorizar os riscos por relevância aos alvos de proteção. Danos sérios ou irremediáveis são prioritários, desde que a probabilidade de ocorrência seja real. Em geral, contudo, danos dessa natureza não são esperados em um novo OGM para o qual se solicita liberação comercial, e caberá ao avaliador de risco ambiental a dura tarefa de priorizar os riscos. Informações científicas e histórico de uso seguro têm um papel decisivo.

Essa quantificação é sempre relativa, isto é, será sempre feita em comparação com situação análoga em que o organismo não modificado está impactando o ambiente. Embora em princípio uma comparação dessa natureza seja possível em condições experimentais, ela é difícil ou mesmo impossível no caso de monitoramentos pós-liberação comercial. Por isso, o monitoramento não deve ser incluído como uma etapa da avaliação de risco, pois a metodologia empregada para os casos mais controlados de experimentos em contenção ou a campo não se aplica a ele.

Faz parte, também, da mensuração de riscos a identificação de representantes de cada alvo de proteção que possam responder à questão de biossegurança levantada. Por exemplo, o impacto negativo no ambiente em razão do cultivo de uma planta resistente ao ataque de determinados lepidópteros, pela produção endógena de uma proteína inseticida, poderia ser avaliado pelo acompanhamento de muitos parâmetros distintos, mas que, se avaliados em conjunto, determinarão um alto custo do processo de avaliação de risco, sem necessariamente aportarem dados relevantes à biossegurança. Em paralelo, a avaliação do impacto ambiental poderia ser direcionada para um ou mais insetos não alvos que pudessem representar adequadamente esse risco (i. e., impacto sobre organismos não alvo). A escolha de um determinado alvo pode ser difícil, mas há, atualmente, uma vasta experiência nessa área da avaliação de risco[3].

Uma vez escolhidos os parâmetros de avaliação e a metodologia a ser seguida, a formulação do problema está terminada, restando ao avaliador concluir sua análise. As conclusões vão depender do balanço entre os benefícios trazidos pela nova tecnologia e os eventuais danos (se e quando acontecerem), posto que as medidas de contenção de risco ou de mitigação dos danos implicam custos, tanto financeiros quanto ambientais. Uma decisão dessa natureza envolve, com frequência, outros elementos de análise, que estão *fora do escopo da avaliação de risco*, mas que podem fazer parte da análise de risco como um todo. Assim, por exemplo, considerações sobre a coexistência da tecnologia baseada no OGM e aquela fundamentada no organismo não transgênico fazem parte da gestão de riscos, e podem levar o analista de risco a desaconselhar a adoção de uma determinada tecnologia, caso custos elevados ou impacto social acentuado fossem observados.

GESTÃO E COMUNICAÇÃO DE RISCOS

A comunicação de um risco poderia ser encarada como uma etapa da gestão, como o monitoramento. Entretanto, muitas vezes as atividades de comunicação de uma empresa estão ao encargo de um departamento distinto daquele que faz a gestão do risco em seus outros aspectos. Operacionalmente, portanto, as duas atividades costumam estar separadas.

A comunicação de risco não é um processo unilateral, no qual uma empresa ou um órgão do governo comunica ao público-alvo sobre um determinado risco. Ao contrário, é um processo interativo de troca de informações e opiniões entre indivíduos, grupos e instituições. Muitas vezes, envolve a troca de múltiplas mensagens sobre a natureza do risco, as preocupações, as opiniões ou as reações às mensagens de risco ou à forma como a gestão de riscos é conduzida. Assim, é um processo que auxilia a gestão de risco e consolida a avaliação de risco, corroborando a percepção de segurança e risco advindos da avaliação das partes interessadas no produto ou afetadas por ele (chamadas *stakeholders*). Uma comunicação de risco eficiente reduz a expectativa da população-alvo, prepara os agentes sociais para a tomada de ações mitigatórias, quando necessário, e minimiza a desconfiança quase sempre existente quanto às intenções reais da iniciativa privada, sobretudo quando o assunto é o meio ambiente. Por outro lado, traz à empresa ou ao órgão fiscalizador subsídios para o planejamento de ações de gestão.

A gestão de riscos inclui, primordialmente, uma avaliação prévia das múltiplas opções para a mitigação de danos ambientais, a tomada de ações mitigatórias, caso danos ocorram, e o monitoramento. Este deve ser dirigido à identificação de danos não previstos na análise de risco, o que implica no estabelecimento de um sistema de

monitoramento geral, além de um monitoramento caso-específico quando o risco de danos não negligenciáveis for apontado na avaliação prévia à liberação comercial do OGM. A necessidade de se monitorar o impacto sobre o meio ambiente de um OGM, para o qual a análise de risco não apontou riscos concretos, parece contraditória. Ainda que certas características da construção genética de plantas transgênicas não estejam sob total controle do experimentador, não há razões concretas para esperar-se que os eventos elite selecionados para a introdução no mercado tenham qualquer comportamento fora do esperado. Entretanto, a percepção pública sobre OGM tem sido proveniente de informações veiculadas na mídia e/ou por grupos ideologicamente contrários à biotecnologia, que especulam sobre as incertezas oriundas da forma como esses produtos são produzidos e sobre as questões políticas de mercado. Embora isso seja parcialmente verdadeiro para o caso de plantas e outros metazoários, não é o caso para microrganismos. Por esse motivo, a oposição pública aos OGM representados por leveduras, bactérias e vírus talvez seja menor do que a observada para plantas.

O monitoramento de OGM vem sendo realizado por poucos países. Na Figura 3, mostra-se como os monitoramentos geral e caso-específico poderiam ser acoplados, de acordo com proposta em discussão na Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Uma proposta semelhante, embora consideravelmente mais complexa, foi elaborada pela Autoridade em Segurança Alimentar Europeia (EFSA, 2006). De acordo

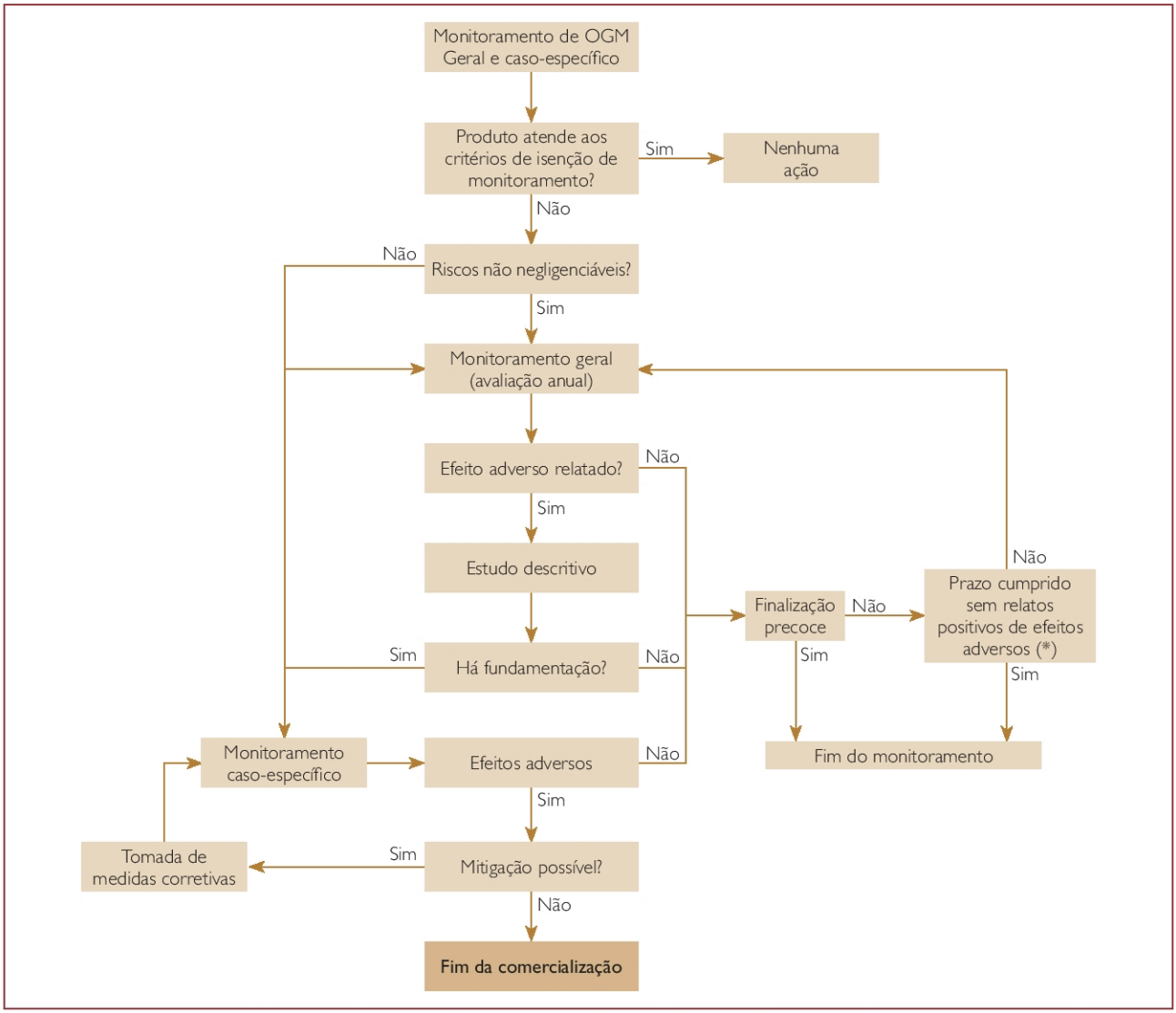


Figura 3. Proposta de monitoramento de OGM após liberação comercial. O monitoramento geral (*general surveillance*) é a base para o monitoramento e determina o início do monitoramento caso-específico quando danos forem observados. Apenas no caso de riscos não negligenciáveis terem sido detectados na avaliação prévia à liberação, adota-se o monitoramento caso-específico desde a liberação do produto no ambiente. Produtos com histórico de uso seguro ou cujos transgenes tenham histórico de uso seguro em outros organismos poderiam ser dispensados de monitoramento caso a caso.

com o fluxograma da Figura 3, nem todos os OGM devem ser monitorados, sendo dispensados aqueles que têm histórico de uso seguro, por exemplo. O tempo de monitoramento é determinado caso a caso e pode ser encurtado por decisão da CTNBio após a avaliação dos resultados de anos anteriores. O monitoramento caso-específico só é iniciado se, por meio do monitoramento geral, forem identificados efeitos adversos. A exceção ocorre quando, na avaliação de risco, forem encontrados riscos não negligenciáveis. O Brasil iniciou o monitoramento da primeira variedade de uma cultura geneticamente modificada (GM) (a soja) há quase meia década e o resultado apresentado indica que o produto é tão seguro ao ambiente quanto o seu parental não modificado. Entretanto, esse monitoramento foi voltado aos mesmos riscos que haviam sido considerados negligenciáveis pela avaliação de risco da CTNBio. Não houve um monitoramento geral.

A DIVERSIDADE DE CENÁRIOS NA AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL DE OGM

Como enfatizado anteriormente, a avaliação de risco deverá sempre ser feita caso a caso. Embora, de certa forma, dificulte o estabelecimento de um procedimento uniforme para estabelecer a biossegurança ambiental, por outro lado preserva a particularidade de cada OGM. De fato, os eventos genéticos são distintos mesmo quando o mesmo gene é empregado na transformação de uma mesma planta e, até certo ponto, justifica-se a abordagem individualizada por evento. Entretanto, isso cria uma multiplicidade de cenários talvez desnecessária à contextualização da avaliação de risco: os detalhes moleculares das construções genéticas, inclusive seus sítios de inserção no genoma dos OGM, parecem ter, em geral, pouca ou nenhuma influência sobre aspectos de biossegurança do organismo. Da mesma forma, diferentes biomas podem ter influência sobre o impacto de um OGM, mas isso não é uma regra fixa. Na Tabela 1, é exemplificado como OGM e cenários articulam-se no contexto da avaliação de risco ambiental.

No caso de produção em contenção, o impacto no ambiente pode ocorrer pelo descarte de efluentes e resíduos sólidos, mas também pela liberação de gases de fermentação (que podem carrear microrganismos GM vivos). Se o OGM é consumido e ainda mantém-se viável após a digestão, ele pode atingir os sistemas de tratamento de esgoto, o solo ou as coleções de água. Se o OGM é vacinal, ele pode atingir toda a fauna associada ao organismo vacinado e mesmo organismos que ocasionalmente entram em contato com a vacina. Outros exemplos na Tabela 1 mostram a diversidade de cenários com a qual se depara o analista de risco ambiental. Deve-se ter em mente, contudo, que não é o impacto global do OGM que está em análise, mas apenas aqueles impactos que o diferenciam do parental não modificado.

AVALIAÇÃO DA BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS

Como exemplo de avaliação de risco ao meio ambiente, foi escolhido o caso do algodão Bt, evento MON530, já liberado no Brasil. As células desse algodoeiro geneticamente modificado expressam um polipeptídio novo que representa uma parte da proteína inseticida Cry1Ac do microrganismo *Bacillus thuringiensis*, subespécie *kurstaki*, linhagem HD73. Dessa forma, o algodoeiro torna-se resistente a vários lepidópteros que atacam a cultura. O fluxograma de avaliação de risco previamente discutido (Figura 2) será seguido nos itens abaixo, supondo-se um pedido de liberação comercial desse algodão.

Formulação do problema – o contexto do algodão Bt

Os elementos principais do contexto são o arcabouço legal, a biologia da planta, as principais regiões de cultivo (i. e., o ambiente receptor) e a construção genética, sobretudo no que concerne a produção de proteínas novas e a geração de novos fenótipos.

Tabela 1. Alguns dados relativos à produção de OGM ou de seus derivados, explicitando as principais preocupações ambientais e os cenários de maior impacto

Organismo	Produção	Produtos	Principais preocupações	Cenário impactado
Bactérias e leveduras	Em contenção	Enzimas, hormônios	Efluentes e resíduos sólidos	Rios, lavouras
Vírus	Em contenção	Vacinas com vírus vivo atenuado	Transmissão a animais silvestres e de criação	Aviários, populações de aves silvestres
Plantas	Em campo	Alimentos e produtos vegetais	Fluxo gênico para espécies nativas; impacto sobre organismos não alvos	Lavouras, matas e outros ambientes silvestres
A. aegypti	Em contenção	Insetos "estéreis"	Reversão do fenótipo	Áreas urbanas
Peixes	Em campo	Peixes com crescimento rápido	Competição com espécies nativas	Rios

O arcabouço legal

A partir de 2005, o Brasil conta com uma legislação específica para a biossegurança de OGM, que está fundamentada na Lei n. 11.105, em seu decreto correspondente e em um conjunto de resoluções normativas que regulam aspectos específicos da biossegurança de transgênicos (BRASIL, 2010). Para que um pedido de liberação comercial possa ser analisado, a proponente deve conduzir a avaliação de risco de acordo com as instruções encontradas na Resolução Normativa n. 5, inclusive no que se refere à avaliação de risco ambiental. Essa resolução contém uma lista de perguntas bastante extensa que é dirigida à identificação de riscos, levando em conta alvos de proteção consagrados na legislação brasileira ou propostos como relevantes ao longo dos primeiros anos de funcionamento da CTNBio. A existência de perguntas específicas facilita, de certa forma, a construção de uma avaliação de risco, mas engessa o processo quando se trata de um OGM com propriedades inovadoras ou um ambiente receptor muito específico. Caberá sempre à proponente identificar os cenários prováveis de liberação do OGM e proceder à avaliação de risco seguindo os passos mostrados nos itens anteriores.

Não se esperam riscos não negligenciáveis apontados nessa avaliação. Entretanto, quando riscos concretos à biodiversidade são identificados, a CTNBio pode propor a criação de áreas de exclusão na liberação do OGM no ambiente ou mesmo solicitar que um estudo de impactos ambientais seja feito e apresentado a ela e ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama).

Uma vez aprovado o pedido pela CTNBio, o plantio do algodão GM dependerá ainda do atendimento às normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, como para qualquer outro produto agrícola. A decisão da CTNBio só pode ser contestada pelo Ibama e pela Anvisa por meio de requerimento ao Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS).

É também no arcabouço legal, mas não restrito à lei n. 11.105 e às normativas da CTNBio, que se podem identificar alvos de proteção preferenciais, obedecendo às políticas públicas do meio ambiente e a outras políticas do país.

A biologia do algodoeiro

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) é uma planta hermafrodita ou andrógina, tendo os dois gametas (masculinos e femininos) na mesma flor, sem incompatibilidades genéticas e de sincronia de recepção. Assim, o algodão é considerado uma espécie prevalentemente autógama, mas a polinização do algodoeiro por insetos, especialmente abelhas, leva a uma taxa de cruzamento natural, influenciada pela população de espécimes transportadores de pólen. Os insetos mais observados em plantações de algodoeiro herbáceo variam entre as várias regiões do Brasil; em Ribeirão Preto, são *Apis mellifera scutellata* (africanizada) (50,3%), coleóptero *Diabrotica speciosa* (Brasileirinho) (40,8%), outros himenópteros (5%), outros coleópteros (1,7%), lepidópteros (1,1%) e abelha *Trigona* spp. (Arapuá) (1,1%)[4]. Com exceção da abelha africanizada e da arapuá, os demais insetos coletam exclusivamente néctar; a abelha africanizada é considerada polinizadora efetiva da cultura. Levantamentos realizados em Brasília (DF) em *G. hirsutum* e em Campina Grande (PB) nas espécies silvestres *G. barbadense*, *G. mustelinum* e *G. hirsutum* r. *marie-galante* Hutch[5] observaram, respectivamente nas duas cidades, 23 e 21 espécies de abelhas, sendo apenas quatro comuns às duas áreas. As diferenças encontradas mostram a necessidade de estudos para diferentes regiões e sistemas de produção de algodão, principalmente nas regiões onde estão as maiores áreas cultivadas com algodão no país.

Existem mais de 50 espécies de *Gossypium*, mas apenas quatro são regularmente cultivadas (*G. hirsutum, G. barbadense, G. herbaceum* e *G. arboreum*). O Brasil é o centro de origem apenas de *G. mustelinum*, conhecido como algodão brabo ou algodão macaco, que não parece ser ancestral do algodoeiro arbóreo *G. hirsutum* r. *marie-galante* Hutch, planta perene de origem desconhecida e denominada algodão mocó[6]. Além da espécie selvagem *G. mustelinum*, foram identificadas no Brasil as espécies asselvajadas *G. barbadense* variante *brasiliensis* (conhecido como Inteiro ou Rim-de-boi), *G. barbadense* (Quebradinho) e *G. hirsutum* r. *marie-galante* (algodão arbóreo ou mocó). O *G. mustelinum* foi encontrado nos municípios de Caicó (RN), Crato (CE), Macururé (BA) e Caraíba (BA). Os de tipo barbadense são encontrados na orla do Pantanal, na zona de Mata Atlântica e na Amazônia brasileira. O algodoeiro arbóreo do Nordeste é encontrado na região de clima árido, conhecida como seridó nordestino, tendo como região mais representativa os municípios de Acari, Parelhas, Caicó e Currais Novos, no Rio Grande do Norte.

As principais regiões de cultivo – o ambiente receptor

O levantamento sistemático da produção agrícola disponibilizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)[7] estima uma produção de algodão herbáceo (*G. hirsutum*), para a safra de 2011, da ordem de 4,8 milhões de toneladas, representando um acréscimo de 63,5% em relação à safra passada e de 53,1% na área a ser colhida, totalizando cerca de 1,2 milhões de hectares. Mato Grosso e Bahia são responsáveis por 82% da produção. A distribuição da produção nas vá-

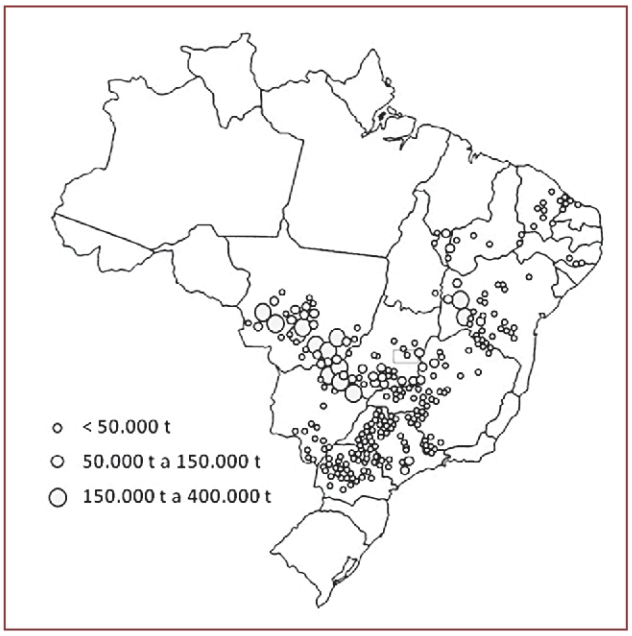


Figura 4. Produção brasileira de algodão em 2004 (adaptada de IBGE, 2005).

Tabela 2. Ano de autorização de plantio do algodão Bt expressando o gene *cry1Ac* para uso em alimentação humana ou como ração pela autoridade competente de vários países (adaptado de http://www.cera-gmc.org)

País	Plantio	Alimento ou ração	Alimento	Ração
África do Sul	1997		1997	1997
Argentina	1998		1998	1998
Austrália	1996		1996	1996
Canadá			1996	1996
China			2004	2004
Colômbia	2003	2003		
Coreia			2003	2004
Estados Unidos	1995	1995		
Filipinas			2004	2004
Índia	2002			
Japão	1997		1997	1997
México	1997		1997	1997
União Europeia		2005		

rias unidades federativas está mostrada na Figura 4. Ela sobrepõe-se parcialmente às áreas endêmicas para *G. mustelinum* e algodão mocó.

Para o algodão arbóreo (em caroço), conforme os últimos dados do IBGE de Produção Agrícola Municipal (ano 2009; Séries Estatísticas & Históricas), a área plantada na região Nordeste, tradicional produtora desse tipo de algodão, tem ficado abaixo de 1.000 hectares desde 2007, sendo os principais produtores o Ceará, o Piauí, a Paraíba e o Rio Grande do Norte. Esses dados indicam que o cultivo do algodão arbóreo no Nordeste, praticamente desapareceu. Por outro lado, o Mato Grosso vem aumentando sua produção de algodão mocó com a adoção de novas tecnologias, chegando a alcançar seis vezes a produtividade observada no Nordeste.

Além do Brasil, o algodão é cultivado em muitos outros países. Para a avaliação de risco ambiental, é relevante saber quais são os outros países que plantam a variedade GM em avaliação, desde quando e se houve danos ao ambiente especificamente relacionados ao OGM, pois o histórico de uso seguro será sempre um importante elemento do contexto na formulação do problema. No caso do algodão Bt exemplificado aqui, a autorização para plantio já tem mais de 10 anos em vários países com clima semelhante ao Brasil (Tabela 2) e não há relatos na literatura de danos ao ambiente.

A construção genética

O evento MON531 foi obtido pela transformação de linhagens de algodão via *A. tumefasciens*. O plasmídio empregado no processo está mostrado na Figura 5. O gene truncado *cry1Ac* permite a expressão de uma forma truncada da proteína Cry1Ac em vários tecidos da planta, sob controle do promotor p--e35S do vírus do mosaico da couve-flor. O gene *aad* não está sob controle de um promotor de planta e,

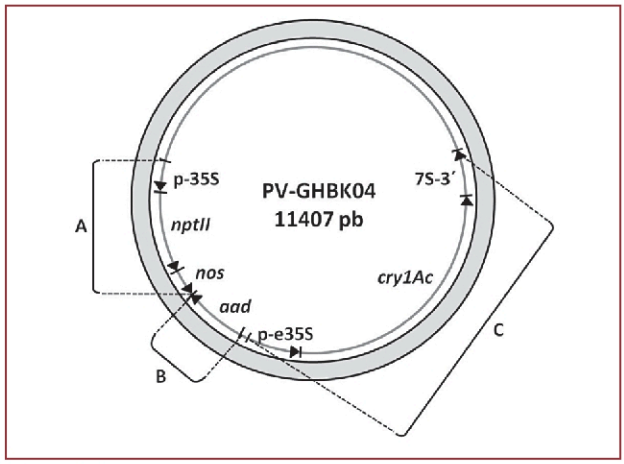


Figura 5. Plasmídio PV-GHBK04 empregado na construção do algodão Bt evento MON531. A expressão da proteína neomicina fosfotransferase II, que confere resistência à neomicina nas células vegetais, é dirigida pelo promotor p-35S do vírus mosaico da couve-flor e a poliadenilação do mensageiro é determinada pela sequência 3´ do gene da nopalina sintase (*A*). O gene *aad*, que codifica a resistência à neomicina, não é expresso na planta porque não está sob controle de um promotor vegetal (B). A proteína Cry1Ac truncada é expressa sob controle de um promotor p-e35S modificado e o mRNA é poliadenilado com auxílio do sinal correspondente na sequência 7S-3´ (C).

portanto, não se expressa no algodoeiro. Um terceiro gene, *nptII*, sob controle de outro promotor p-35S do vírus mosaico da couve-flor, permite a expressão de pequenas quantidades de neomicina fosfotransferase II de *Escherichia coli* no tecido vegetal. A neomicina fosfotransferase determina a resistência à neomicina.

Formulação do problema – definição dos problemas

Nessa parte da avaliação de risco é que se levantam hipóteses de risco associados a danos aos alvos de proteção, que são, em geral, previamente conhecidos (insetos benéficos à agricultura, biodiversidade etc.). No caso do algodão Bt, várias hipóteses de risco podem ser levantadas. Nessa etapa ainda não se impõe a necessidade de um mecanismo causal cientificamente plausível. A lista abaixo resume algumas ocorrências que podem levar a danos aos alvos de proteção, levando em conta também o ambiente receptor, a biologia do algodoeiro e a construção genética:

a. fluxo gênico para espécies silvestres;
b. fluxo gênico para espécies asselvajadas e variedades crioulas;
c. fluxo gênico para espécies sexualmente incompatíveis = fluxo gênico horizontal;
d. impacto negativo sobre insetos não alvo;
e. impacto sobre outros artrópodes;
f. alterações da microbiota do solo;
g. alterações da composição mineral e das propriedades físicas do solo.

Embora a determinação dos riscos acima possa ser bastante especulativa, ela deve ter como base a experiência da liberação de eventos similares quanto ao seu impacto no ambiente, quando esta existir.

A caracterização do risco

A partir da lista de riscos gerada na etapa anterior, pode-se proceder ao estudo do binômio *probabilidade da exposição/consequências da exposição* no contexto previamente definido. Como exemplo, são considerados os riscos (a) e (d) da lista anterior.

A biologia do algodoeiro aponta para a possibilidade concreta de hibridação interespecífica: as espécies cultivadas e a espécie silvestre são sexualmente compatíveis e abelhas de várias espécies podem polinizar as flores. Sendo a espécie *G. mustelinum* um alvo de proteção, de acordo com as leis brasileiras de proteção à biodiversidade, é pertinente avaliar esse risco (i. e., fluxo gênico) e o dano associado (em caso de uma possível introgressão do gene).

Da mesma forma, a proteína inseticida Cry1Ac, embora considerada específica para certos grupos de lepidópteros, poderia ter consequências desastrosas para a população de insetos não alvo, caso fosse letal para uma ou mais espécies que merecem proteção (seja porque estão ameaçadas de extinção, seja por sua utilidade no ambiente agrícola, ou ainda por outra razão relevante, previamente identificada na formulação do problema). É evidente que o número de insetos não alvo é muito grande, então é preciso definir representantes adequados ao alvo genérico de proteção. Uma vez feito isso, a mensuração do risco pode ter início.

Mensuração do risco

Seguindo com os dois exemplos tomados da etapa de caracterização do risco, pode-se determinar:

a. para o fluxo gênico: distâncias de polinização, viabilidade e competitividade dos híbridos interespecíficos, evidências da existência de híbridos na natureza e vantagem seletiva conferida pela construção genética;
b. para impacto sobre insetos não alvo: determinar um ou dois insetos que representem a fauna visitante de algodoeiros em cada região, que sejam filogeneticamente próximos (sempre que possível) da espécie-alvo e que possam ser ensaiados com segurança em laboratório.

As abordagens anteriores permitem gerar dados confiáveis para a conclusão da avaliação de risco para os dois itens acima. O cruzamento entre o algodão comercial e o silvestre parece ser pouco comum e os híbridos pouco competitivos, mas o gene de fato confere uma pequena vantagem seletiva, sobretudo em áreas onde o cultivo comercial de algodão aumenta significativamente a população de insetos praga. Nesse caso, por precaução, é conveniente estabelecer áreas de exclusão e aprofundar os estudos sobre fluxo gênico. Já no caso de insetos não alvo, o impacto da proteína Cry1Ac só é observado para doses de várias ordens, de grandeza acima das doses enfrentadas pelos insetos no campo. Estudos em campo devem ser evitados porque são complexos, sujeitos a muitas variações fora do controle do experimentador e acabam gerando dados de difícil interpretação. Após gerar dados para os itens considerados relevantes, o analista pode concluir sobre a segurança ambiental do algodão Bt.

Um processo essencialmente semelhante a esse foi seguido pela CTNBio para avaliação da biossegurança ambiental do algodão Bt, que levou à liberação comercial para o plantio em 2005, com a criação de algumas áreas de exclusão que devem ser revistas agora, passados 5 anos de adoção da tecnologia.

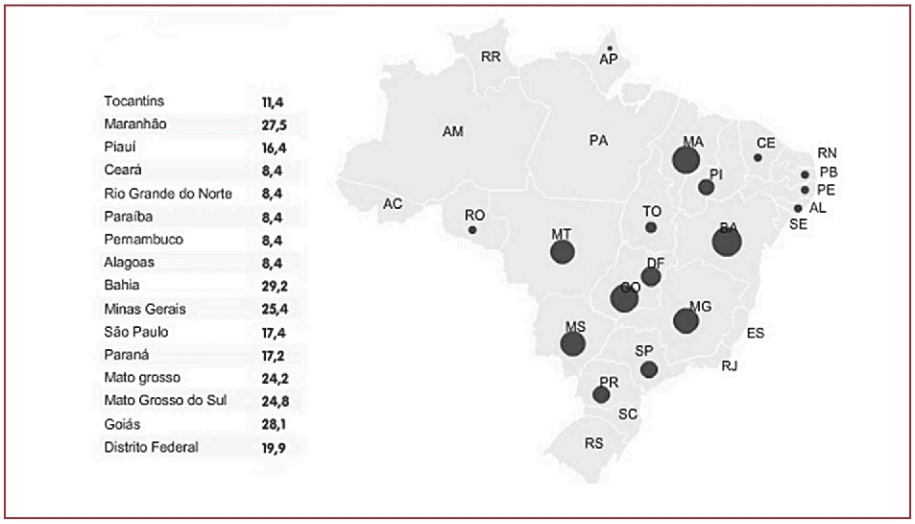


Figura 6. Adoção do algodão geneticamente modificado no plantio comercial do Brasil, safra 2010. Na tabela à esquerda da figura, estão indicadas as porcentagens de algodão GM plantado em cada estado (Fonte: Céleres).

Até o presente, nenhum dano ao meio ambiente foi observado, apesar da adoção crescente de variedades de algodão geneticamente modificadas no Brasil, como mostra a Figura 6. Essa é uma demonstração de que uma avaliação de risco ambiental bem conduzida oferece ao país uma oportunidade de adotar tecnologias inovadoras sem comprometer a biodiversidade brasileira.

CONCLUSÕES

A análise de risco ambiental de OGM e, dentro dela, a avaliação de risco devem ser conduzidas seguindo um procedimento que se consolida mundialmente. Neste capítulo, foram revistas as premissas da avaliação de risco e foi indicado um fluxograma que pode ser adotado para a avaliação de risco de qualquer OGM. O fluxograma está de acordo com a proposta em elaboração pela Convenção de Biodiversidade (CBD), dentro do Protocolo de Cartagena, e que pode ser acessada no portal do Grupo Técnico *ad hoc* para Avaliação de Risco da CBD[8]. A adesão a um processo de avaliação de risco internacionalmente reconhecido facilita a exportação de produtos da biotecnologia brasileira e a adoção de produtos desenvolvidos em outras partes do mundo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana de Saúde. Marco legal brasileiro sobre organismos geneticamente modificados. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. p. 218.
2. Wolt JD, Keese P, Raybould A, Fitzpatrick JW, Burachik M, Gray A et al. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. Transgenic Research. 2010;19(3):425-36.
3. Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi MP, Gielkens MM, Hartley SE et al. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. Nat Biotechnol. 2008;26(2):203-8.
4. Sanchez Jr JLB, Malerbo-Souza DT. Frequência de insetos na polinização e produção do algodão. Acta Scientiarum Agronomy. 2004;26(4):461-5.
5. Pereira FFO, Pires CSS, Silveira FA, Barroso PAV, Sujii ER, Fontes EMG. Fauna de abelhas em espécies cultivadas e não cultivadas de algodão Gossypium spp. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Algodão, 2005, Salvador.
6. Freire EC, Moreira JAN, Santos JW, Andrade FP. Relações taxonômicas entre os algodoeiros mocó e *Gossypium mustelinum* do Nordeste brasileiro. Pesq Agrop Brasileira. 1998;33(10):1555-61.
7. IBGE. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa2011035.shtm.
8. UNEP/CBD/BS/AHTEG-RA&RM/2/5. Final report of the ad hoc Technical Expert Group on Risk Assessment and Risk Management under the Cartagena Protocol on Biosafety. 2010. p. 40. Disponível em: http://www.cbd.int/doc/meetings/bs/bsrarm-02/official/bsrarm-02-05-en.pdf. Acesso em: 29/5/2011.
9. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: informação e documentação – referências elaboração. Rio de Janeiro, 2002.
10. European Food Safety Authority (EFSA). Guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. EFSA Journal 2011; 43. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/consultations/call/gmo110418.pdf. Acesso em: 29/5/2011.
11. FAO/WHO Expert Consultation on the Application of Risk Communication to Food Standards and Safety Matters. The application of risk communication to food standards and safety matters. 1998. p. 31. Disponível em: http://ftp.fao.org/docrep/fao/005/x1271e/x1271e00.pdf. Acesso em: 29/5/2011.

capítulo 18

Objeção às plantas geneticamente modificadas

Francisco Gorgonio da Nobrega

INTRODUÇÃO

A objeção às plantas geneticamente modificadas (PGM) é multifacetada, apesar de a área plantada crescer cerca de 7% ao ano e de existir um registro de uso seguro há cerca de 15 anos, em vários países. Neste capítulo, essa oposição é discutida diante da suposta natureza artificial da modificação genética específica, dos riscos em virtude da natureza aleatória do local de inserção, do perigo dessas plantas produzirem produtos tóxicos ou alergênicos, da objeção ao uso de PGM resistentes a herbicidas, do problema da migração do transgene para outras plantas e dos aspectos políticos/regulatórios importantes. O embasamento histórico/biológico dos argumentos leva à conclusão de que a tecnologia é segura e as precauções, que a legislação impõe e a CTNBio cumpre, são completamente satisfatórias e, na opinião do autor, pecam pelo excesso de exigências desnecessárias, criando uma barreira para o desenvolvimento local da tecnologia e um custo adicional para a população. Ademais, as PGM fortificadas, que incorporam nutrientes escassos na dieta de populações pobres, têm seu desenvolvimento em particular prejudicado por sua finalidade predominantemente humanitária, dependendo de recursos públicos e doações para seu desenvolvimento.

Meu interesse sobre a biotecnologia de plantas foi despertado pelo trabalho de cientistas como van Montagu, que, nos anos 1970 e 1980, estudou um método de transformação genética inventado pela natureza há centenas de milhares de anos, o qual permite a uma bactéria



Figura 1. Natureza intocada, Amazônia.

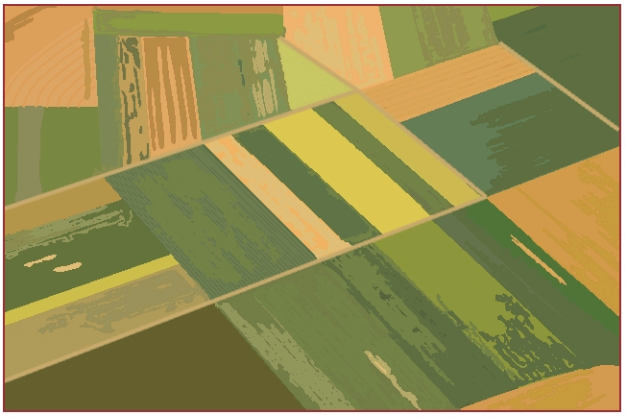


Figura 2. Plantações, natureza modificada pela ação humana.

introduzir na planta genes cujos produtos de expressão lhe são úteis. A meu ver, se a natureza consentiu à humilde *Agrobacterium tumefasciens* tal façanha, não via por que o *Homo sapiens* não poderia explorar esse fenômeno para o progresso da agricultura, criando plantas geneticamente modificadas (PGM) pela via da modificação genética específica, usando a "engenharia genética". Essa metodologia parecia para mim uma adição importante às técnicas "clássicas", como hibridação cruzada entre espécies ou mesmo gêneros distintos, enxertia, busca de mutantes espontâneos e indução acelerada destes por meio do tratamento de sementes com agentes mutagênicos químicos ou físicos. Ninguém se espanta com o resultado de cruzamento entre espécies distintas como a rutabaga (repolho com nabo) ou a mula (jumento com égua). No entanto, logo notei uma avalanche de artigos na mídia e mesmo alguns cientistas levantando hipóteses assustadoras sobre as possíveis consequências negativas do uso dessas tecnologias. Fascinado pelo debate, como havia sido pela controvérsia lançada pelo virologista Duesberg relativamente à causa da Aids, passei a acompanhar as matérias e a estudar a questão. O chamado do Ministério de Ciência e Tecnologia, em 2007, para integrar a CTNBio, levou-me a aprofundar a pesquisa sobre as aspectos controversos da tecnologia. O resultado tem sido uma confirmação reiterada da segurança desses procedimentos e a gestação de uma visão pessoal, que considero apoiada em evidências sólidas, as quais, além de reafirmarem, inclusive, uma superioridade dos procedimentos modernos sobre os "clássicos", sugerem a conveniência de propor alterações na legislação atual, com o intuito de eliminar etapas cautelosas claramente excessivas que apenas tornam a tecnologia muitíssimo cara para os que a desenvolvem e, em última instância, para os usuários finais: a população. Os únicos beneficiários da legislação atual são as gigantes multinacionais da biotecnologia de plantas, como a Monsanto, Syngenta, Du Pont e Bayer, que assim mantêm o monopólio nessa área. Este texto é, portanto, uma reflexão sobre a base factual dos temores expressos por muitos e que são amplamente incentivados por um ativo grupo de indivíduos associados a certas ONG, apoiadas por alguns membros da comunidade científica e por jornalistas. A mídia, caracteristicamente, ignora as evidências de seguridade e aceita de forma alegre toda análise catastrófica que aparece. E sabemos que "notícia boa não é notícia".

O planeta tem sido extensamente modificado em razão da presença humana. Com cerca de 7 bilhões de habitantes, apesar das taxas decrescentes de crescimento populacional, tem potencial para atingir 8 a 9 bilhões de pessoas e impor múltiplas demandas aos recursos naturais existentes. Segundo o fotógrafo e ambientalista Sebastião Salgado, 46% do planeta permanece intocado. O seu projeto GENESIS registra, atualmente, a beleza prístina dessas áreas, inclusive a vida dos povos que ainda sobrevivem em condições primitivas em regiões isoladas na Amazônia, Nova Guiné etc. Ele busca esse retrato do planeta para incentivar o cuidado com o meio ambiente. A tarefa atual para a agricultura é alimentar esse enorme contingente – sem que seja necessário destruir mais matas nativas –, recuperar ecossistemas degradados e obter cultivares para regiões com solos pouco irrigados, salinos, pobres, contaminados ou afetados por mudanças climáticas. Muitos países da África, por exemplo, ainda não usam sequer os recursos da agricultura moderna anteriores à transgenia (a Revolução Verde dos anos 1960 e 1970) e passam fome degradando o meio ambiente com uma agricultura orgânica insuficiente para uma alimentação abundante e equilibrada. A seguir, são examinadas algumas controvérsias habituais sobre as PGM.

NÃO É NATURAL ALTERAR GENOMAS

Esta é uma das objeções mais comuns à engenharia genética de plantas: ela é artificial. Curiosamente, são muito raras as campanhas contra a modificação genética de animais, células de cultivo, fungos ou bactérias para a produção das mais variadas substâncias de uso médico ou alimentar (como o coalho, usado na produção de queijos). A definição de "natural" é um problema em si. Nossos ancestrais, antes do *Homo sapiens*, já modificavam a natureza ao utilizar o fogo, promover a dispersão de plantas úteis e construir seus abrigos. Na aparentemente "virgem" floresta amazônica, foram encontrados múltiplos sinais da passagem do homem, que modificou a floresta deixando sinais de técnicas importantes de manejo do solo, como a terra preta. A dualidade "natural x artificial" se sustenta no desconhecimento da história dos cultivares e no analfabetismo científico. O que domesticamos há cerca de 10 mil anos, como o trigo e outras plantas, é pura criação humana, interferência "artificial" no reino vegetal. A planta ancestral tinha poucas sementes, que se desprendiam facilmente com o vento. A domesticação do trigo levou à seleção de plantas com características cada vez mais interessantes para a alimentação humana: sementes maiores e mais abundantes, que não se soltam facilmente, sincronia de desenvolvimento etc.[1] Cruzamentos entre variedades para acelerar o aparecimento de novos e mais atraentes fenótipos resultaram aos poucos no trigo moderno, amplamente cultivado. Ele quase nada se parece com a planta (ou plantas) que lhe deu origem. Sua domesticação implica dependência total do cuidado humano para sua propagação. Todas as plantas desse tipo perdem a capacidade de colonizar o meio ambiente se deixadas à própria sorte. Para dar um exemplo marcante do quanto artificial a agricultura "clássica" pode ser, nos anos 1950, O-Mara, da Universidade Iowa State nos Es-

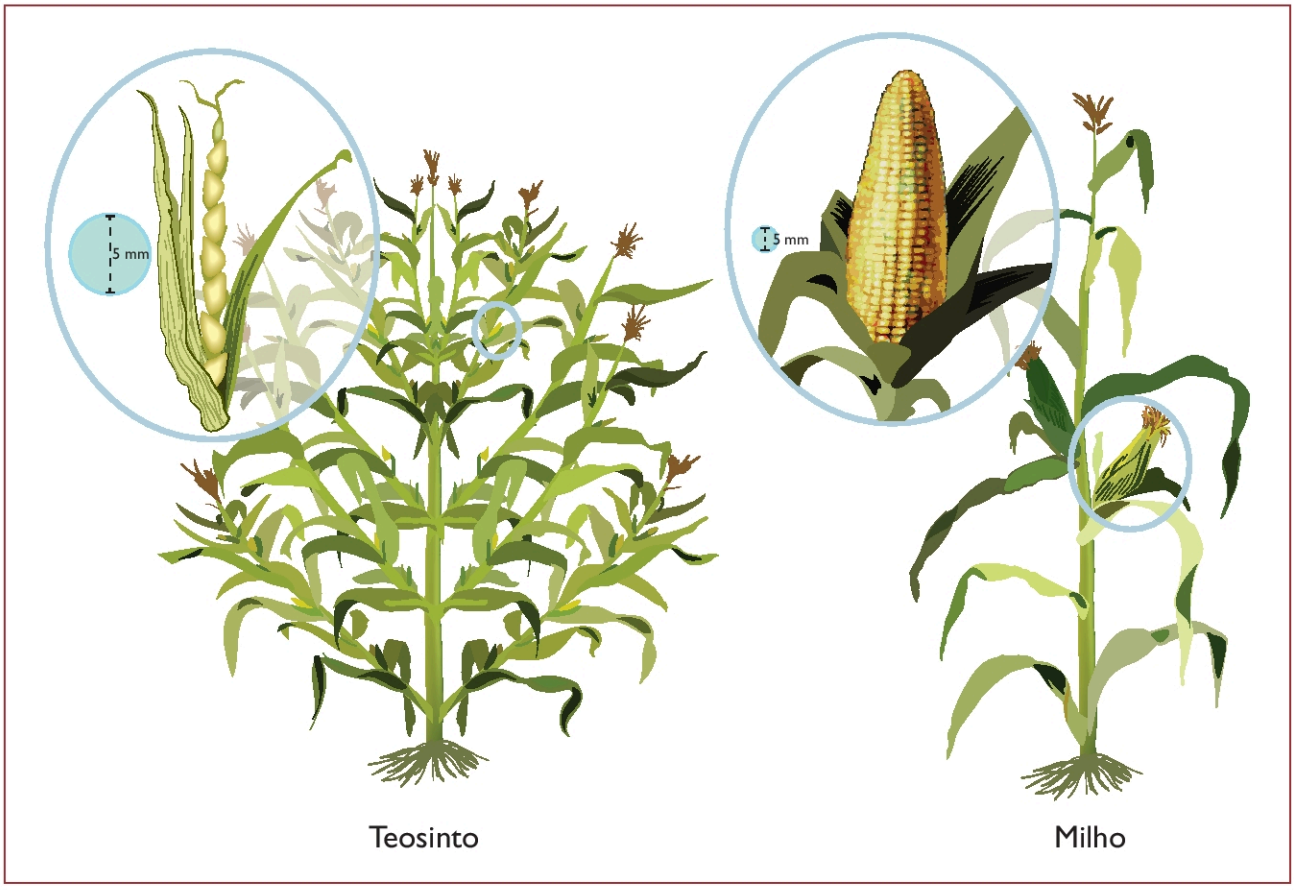


Figura 3. Teosinto, o ancestral do milho moderno, e o milho moderno. Notar a diferença entre as espigas.

tados Unidos (EUA), usou o "veneno" colchicina para desenvolver um híbrido fértil entre dois gêneros distintos: trigo e cevada. A planta foi batizada de triticale e, já nos anos 1980, ocupava mais de 2 milhões de acres na União Soviética, na França, nos EUA, no Canadá e na América do Sul[1]. Esse híbrido tem 28% mais proteína que o trigo e também mais aminoácidos essenciais, e sua farinha tem delicioso sabor. Tornou-se um favorito dos partidários de alimentos naturais e de *health foods stores* pelo mundo afora. Caso os ativistas atuais contra as PGM existissem naquela época, como teriam reagido ao imaginar as possíveis mutações e rearranjos gênicos, potencialmente capazes de gerar produtos tóxicos ou alergênicos, além das possibilidades de "contaminação genética" de outras culturas, a partir dos campos onde o triticale é cultivado? A aplicação do "princípio da precaução" resultaria, na certa, no impedimento da comercialização desse valioso cereal, um verdadeiro "Frankenstein" de dois gêneros. A colchicina ainda foi usada para produzir frutos sem sementes, como certas melancias.

Na verdade, quando a engenharia genética, em geral, e a de plantas, em particular, foi desenvolvida, estávamos imitando a natureza: microrganismos nas águas e no solo fazem trocas genéticas alucinantes mediadas por bilhões de vírus naturais, por conjugação ou por transformação direta com DNA liberado de organismos que sofreram lise; cerca de 47% dos micróbios cultiváveis nos oceanos recebem material genético por transferência "horizontal".

A observação superficial gera a ilusão de que as espécies são constantes e imutáveis. Darwin começou a demolir tal concepção com a teoria da evolução e a moderna genética molecular, que constantemente identifica os mecanismos que permitem essas mudanças. Todo organismo está em processo de transformação por mutagênese espontânea ou por transferência horizontal de genes, ou seja, introdução natural de pedaços de DNA portando genes entre organismos não relacionados. Esse importante tema de estudo nasceu da facilidade com que podemos clonar, amplificar e sequenciar genomas. Transferências entre fungos e bactérias são bem conhecidas. A célula eucariótica de animais e plantas, inclusive, nasceu de um evento ainda mais brutal: organelas como mitocôndrias e cloroplastos vieram de células "engolidas" por outras que, aprisionadas, acabaram se tornando organelas. Rotíferos bdeloides, que são metazoários minúsculos, adquiriram vários genes de bactérias, fungos e mesmo plantas[2]. Simbiontes bacterianos

de insetos podem alterar a eficiência reprodutiva destes, estimulando sua evolução. Pesquisadores suecos acabam de descobrir que um transgene natural, originado de um tipo de grama (*Poa* sp.), foi transferido para outra gramínea cerca de 700 mil anos atrás. Imagina-se que um vírus ou parasita tenha mediado a transformação genética natural. Múltiplas transferências de genes bacterianos relacionados à capacidade de degradar a parede celular de plantas ocorreram em nematodos parasitas de plantas[3]. Anderson e Seifert[4] descreveram a transferência de um segmento do DNA repetitivo humano L1 para a bactéria *Neisseria gonorrhoeae*, um patógeno humano exclusivo. O grupo de A.R. Teixeira da UNB se destacou com uma sequência de artigos descrevendo a transferência de DNA de *Trypanosoma cruzi* para células do hospedeiro com inserção do DNA dos minicírculos do parasito no genoma de células cardíacas[5]. Esses achados têm aparecido com cada vez mais frequência, em virtude da crescente disseminação, modernização e barateamento das tecnologias de clonagem, amplificação e sequenciamento de genes. E a transferência de genes por meio das barreiras entre espécies, gêneros e mesmo filos tem sido feita pela natureza, sem a intervenção humana! Quem ousaria chamar de "artificial" essa migração horizontal de genes? A moderna tecnologia de inserção de genes em plantas, na verdade, imita o que a bactéria *Agrobacterium tumefasciens* faz há milhões de anos. Pamela Ronald usa a seguinte analogia: a melhoria convencional via cruzamentos é como um casamento no qual o noivo leva toda uma aldeia junto com a esposa. Já a modificação genética de plantas é um casamento no qual o noivo leva a noiva sem qualquer parente[10]. Portanto, a moderna engenharia genética de plantas é cópia de processos ancestrais e naturais que só agora compreendemos e aprendemos a utilizar.

A INSERÇÃO DO TRANSGENE É MUTAGÊNICA

Como a inserção pode ocorrer nos mais variados locais do genoma da planta, esta poderia inativar um gene importante ou provocar uma fusão de um gene vizinho com um segmento do inserto e resultar, supostamente, em uma proteína tóxica ou alergênica. Essa possibilidade existe em tese. Na prática, o genoma de uma planta tem baixa densidade de genes, o que reduz muito esse tipo de inserção. No milho, por exemplo, dos 2,4 bilhões de pares de bases, não mais que 8% do genoma é ocupado por genes. Contudo, inserções que não dão o resultado esperado acontecem em virtude da natureza aleatória do processo. Quando acontece uma inserção que prejudica outro gene ou quando ocorre em região cromossomal onde os genes estão silenciados, o efeito desejado não aparece. Se outro gene é perturbado, isso transparece, pois a planta resultante fica fenotipicamente alterada. Essas plantas serão descartadas nas etapas iniciais da busca por uma planta transformada sem interferências indesejáveis e cujo transgene se expresse de forma apropriada. Após a cuidadosa seleção, que é sempre feita após a introdução do(s) gene(s), apenas os transformantes sadios são mantidos, e uma análise molecular é feita no DNA da planta que está flanqueando o inserto, para examinar se algum gene teria sido perturbado e se há potencial para uma proteína nova

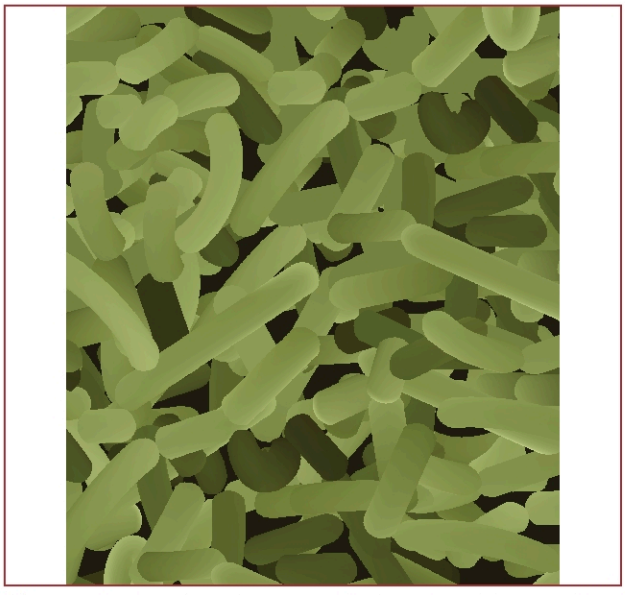


Figura 4. *Agrobacterium tumefasciens*, bactéria causadora das galhas ou tumores de plantas, capaz de inserir genes no genoma do vegetal.
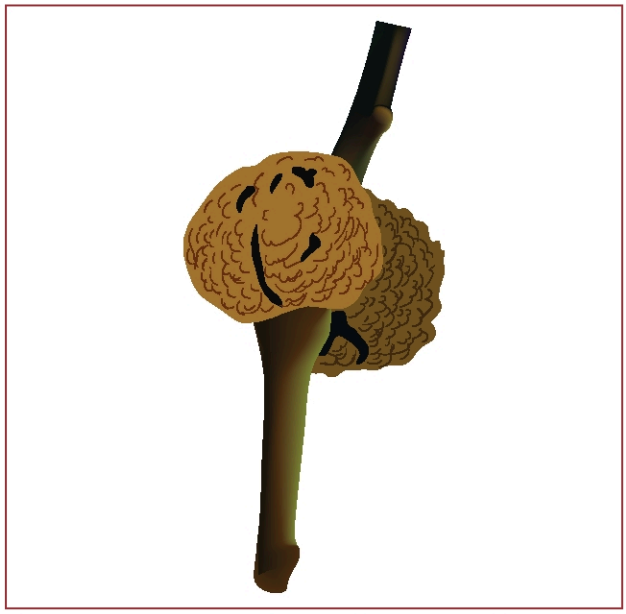


Figura 5. Tumor ou galha em planta infectada pelo *Agrobacterium tumefaciens*.

ser expressa na região de junção. Essa segunda etapa (molecular) de análise permitirá excluir transformantes com potencial de expressar proteínas ou peptídeos não planejados na PGM. Portanto, essa etapa de seleção de transformantes é muito importante e análoga à seleção que o melhorista convencional moderno faz após seus cruzamentos ou mutagênese. É possível imaginar progressos no método de transformação que permitam, futuramente, escolher o local em que o(s) transgene(s) vai(vão) ser inserido(s), reduzindo ou eliminando a tarefa de selecionar o transformante adequado.

O estresse gerado pelas manipulações de transformação genética (usando biobalística ou por mediação com *Agrobacterium tumefasciens*) aumenta um pouco a taxa normal de mutações, como demonstrado no organismo modelo, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, esse aumento é pequeno se comparado às alterações introduzidas no melhoramento clássico. Desde 1920, os melhoristas começaram a utilizar rotineiramente mutagênese química ou por radiação ionizante, assim como colchicina que impede a separação dos cromossomos durante a divisão celular. Tudo para acelerar a busca por variedades melhores. Quase 2 mil plantas obtidas por mutagênese foram comercializadas desde então. Cada uma abriga no mínimo dezenas de mutações e possíveis rearranjos gênicos, atingindo genes que desconhecemos. No entanto, o consumo de alimentos derivados não resultou em qualquer problema nutricional, tóxico ou alérgico. A seleção usual via características fenotípicas aparentemente basta para eliminar efeitos indesejáveis. Esses genes mutados, ainda, passaram em certa medida para outras plantas por meio do fluxo gênico normal (chamado de "contaminação genética" por aqueles que desejam combater a qualquer custo a tecnologia). Nenhum dano ambiental foi relatado, tampouco nenhuma espécie invasiva apareceu para se espalhar pela natureza sem controle. Além disso, gozando de completa liberdade de experimentação, botânicos – profissionais ou amadores – criaram milhares de plantas úteis, usando métodos que certamente não seriam considerados "naturais" se os ativistas de hoje estivessem em ação: cruzamentos entre espécies diferentes e entre gêneros diferentes e uso de enxertia, como no cultivo de rosas, frutas cítricas, uva, graviola, maçãs etc. Vários desses experimentos de campo resultam de *wide crosses,* que carreiam genes de ervas selvagens invasoras ou venenosas ultrapassando a barreira de espécie, sem fiscalização ou restrições governamentais. Recentemente, foi comprovado por estudo usando *microarrays* que as alterações de expressão gênica introduzidas por radiação ionizante no arroz são mais intensas que as induzidas na mesma planta em razão das manipulações específicas e controladas da engenharia genética[6]. Smith et al.[7] examinaram o genoma de uma levedura do gênero *Pichia* que havia sido submetida, por sete anos, a repetidos tratamentos de mutagênese química, transformação genética com inserção de genes e seleção dos indivíduos com as características desejadas entre os vários procedimentos. A linhagem mutagenizada e transgênica resultante foi submetida a sequenciamento genômico completo. Os pesquisadores, surpresos, encontraram menos de 12 mutações em genes. Vale destacar ainda que a *Pichia*, um eucarioto unicelular, apresenta uma densidade de genes no genoma bem maior que uma planta. Portanto, a natureza, em geral, tolera alterações sinônimas e relativamente poucas que alteram uma função biológica de maneira significativa. É quase impossível que inserções e mutações ao acaso transformem genes existentes em toxinas ou alérgenos, como sugerem aqueles preocupados com os locais de inserção de transgenes. Ademais, a seletividade da manipulação genética é motivo para tranquilizar e não levantar suspeitas infundadas. A pesquisadora Pamela Ronald lembra que o melhoramento por cruzamento convencional é semelhante a um casamento no qual o noivo recebe a noiva mais a aldeia inteira (não apenas a sogra...). No caso da modificação por engenharia genética, o noivo vai para casa levando apenas a noiva[10].

Alérgenos e toxinas naturais existem em grande quantidade no reino vegetal e são resultado de milhões de anos de evolução, não podendo ser criados por mutações ao acaso e muito menos por inserções estudadas e monitoradas pela moderna engenharia genética. Portanto, a velha observação cuidadosa do fenótipo de uma nova variedade, exercitada pela espécie humana há mais de 10 mil anos e que deu origem às plantas que nos alimentam, continua sendo útil ao melhorista moderno que usa engenharia genética.

O produto do gene inserido seria nocivo?

O movimento ambientalista foi desencadeado pelo famoso livro de Rachel Carson, *Silent Spring*, de 1962. A autora descrevia em termos dramáticos as supostas consequências futuras para o meio ambiente e humanos/animais do uso excessivo de produtos químicos, sobretudo inseticidas. Claramente ela visualizava, em seu livro, o emergir de múltiplas tecnologias biológicas no futuro para defender as plantações que garantem nosso alimento usando, por exemplo, insetos predadores de pragas, fugindo da ação pouco específica exibida por inseticidas, fungicidas etc. Um dos métodos biológicos de controle de insetos-praga foi a descoberta de uma bactéria do solo, *Bacillus thuringiensis*, que era tóxica para um grande número de insetos que atacavam culturas. A partir de 1920, culturas dessa bactéria começaram a ser borrifadas sobre plantas para protegê-las. Preparações com até quatro variedades distintas de *B.*

thuringiensis, para ampliar o espectro de ação para um número maior de insetos, foram aprovadas para o uso e consideradas tão seguras que tomates assim tratados poderiam ser consumidos até sem lavagem[1]. Os agricultores orgânicos aderiram imediatamente ao processo biológico de controle. Os progressos da biologia, coisa que Rachel Carson não poderia antecipar, visto que faleceu em 1964, vieram a permitir um uso muito mais seletivo e conveniente da propriedade inseticida dessa bactéria: apenas o gene da proteína tóxica é inserido na planta que passa a produzir o bioinseticida. Os insetos morrem ao ingerir a bactéria porque ela contém o produto do gene cry, que é uma proteína que especificamente altera a permeabilidade das células do intestino do inseto, matando-o. A proteína é inócua para animais e atua apenas em certos insetos. Para expressão eficiente do RNA mensageiro dessa proteína, um promotor forte, isto é, uma sequência curta de DNA que promove a transcrição do gene, é associado ao DNA inserido. Um dos promotores mais usados foi isolado de um gene de vírus. Esse fato é utilizado maliciosamente por opositores para sugerir, aos que desconhecem a biologia moderna, que isso acarretaria risco análogo a outras ações virais indesejadas, como ativação de outros genes (algo impossível de ocorrer, visto que o promotor está "amarrado" ao gene cry). A leviandade e ousadia para levantar hipóteses impossíveis e amedrontadoras têm sido a marca dos grupos de pressão. Uma pessoa racional e bem informada, interessada na substituição gradual das armas químicas agrícolas por armas biológicas, saudaria, portanto, o milho Bt (que contém a proteína cry) ou o algodão e soja Bt como soluções positivas, a fim de reduzir a dependência de defensivos químicos. Todavia, a resistência continua intensa em muitos setores, levando alguns analistas a classificar o ambientalismo radical como "a religião dos ateus urbanos" (Michael Crichton), por não se curvar às evidências. A proteína cry foi aceita de imediato quando oferecida dentro do bacilo, cercada de todas as demais biomoléculas potencialmente tóxicas ou alergênicas ao organismo humano, sem suscitar preocupações. No entanto, a pequena quantidade da proteína cry presente nos tecidos da planta transgênica, que não é tóxica – mesmo quando injetada na corrente sanguínea de animais de teste em quantidades assombrosas – e que é digerida em minutos por sulco gástrico ou entérico, suscita "preocupações". Entretanto, sua ingestão por camundongos em teste sem efeito negativo corresponderia, para um humano, comer de uma só vez 70 kg de milho transgênico. Na falta de algo palpável na análise de risco, levanta-se a hipótese gratuita de que "afinal ainda não foi feito um teste em longo prazo e por muitas gerações usando diferentes espécies animais" para comprovar a ausência de efeitos nocivos. Testes desse tipo poderiam ser considerados se o cry fosse um produto químico ou droga de efeito desconhecido. Não obstante, sua natureza proteica, seu mecanismo de ação, sua não alergenicidade e sua digestibilidade foram demonstrados à exaustão. Todos os procedimentos biológicos envolvidos foram cuidadosamente monitorados e mostram que não há qualquer base lógica para exigir testes de longo prazo. No momento, é difícil imaginar um controle biológico para insetos mais benéfico e seguro que o uso das proteínas cry, de ação específica contra diferentes insetos-praga e de nenhum ou pequeno dano para insetos não alvo. Analistas comentam: depois que um trabalho sugeriu que o pólen de uma planta com o gene cry poderia colocar em risco as magníficas borboletas monarcas, que, na verdade, a introdução de plantas com esta característica, resultando na redução ou abolição do uso de inseticidas inespecíficos, foi enorme o avanço na direção da preservação das monarcas[9]. Resta, na comparação com o milho convencional, a importante vantagem de uma redução muito grande[8] na quantidade de micotoxinas presentes no grão, substâncias comprovadamente tóxicas, capazes de aumentar a incidência de câncer hepático. Esse fato, de grande benefício para a segurança alimentar, decorre da redução dos ataques de insetos, que deixam cavidades no grão imediatamente colonizadas pelos fungos produtores de toxinas.

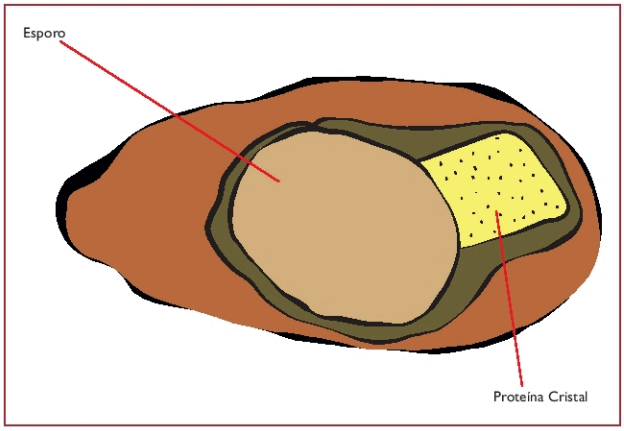


Figura 5. Esquema de esporo do *Bacillus thuringiensis* mostrando a proteína cristal que é tóxica para certos insetos-praga.

RESISTÊNCIA A HERBICIDAS

Tornar um cultivar resistente a herbicidas capazes de eliminar ervas daninhas sem a necessidade de limpeza periódica manual ou mecânica é um benefício enorme. Há redução de tempo de trabalho e gasto de combustível, e o não arar a terra para controle das plantas invasoras resulta em grande benefício ambiental, visto que a terra revolvida perde parte de sua estrutura e é



Figura 6. Plantas convencionais (à esquerda e ao centro) e planta resistente ao ataque de inseto (à direita) devido à presença do gene cry do *Bacillus thuringiensis*.

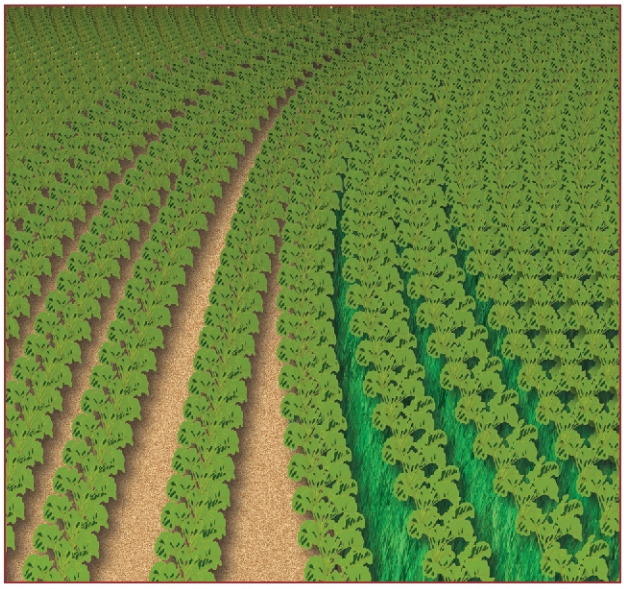


Figura 7. Beterraba resistente a herbicida tratada com herbicida (à esquerda) e não tratada com herbicida (à direita) mostrando a invasão de plantas daninhas competidoras.

facilmente levada pela chuva ou pelo vento, resultando em perda de solo superficial, um dos grandes problemas da agricultura moderna, assoreando rios. O outro benefício ambiental secundário é a perda de carbono no solo revolvido, liberando CO_2 adicional para a atmosfera.

As proteínas que conferem resistência ao glufosinato de amônio e ao glifosato, herbicidas mais seguros que a maioria em uso pelos agricultores, e os genes correspondentes têm sido os mais usados para obter soja, milho ou algodão resistentes aos respectivos herbicidas. Também aqui se demonstrou que as proteínas em questão não são tóxicas ou alergênicas, estão presentes em pequena quantidade na planta e são digeridas no tubo intestinal. Os casos em ampla utilização envolvem proteínas próprias de bactérias ou mesmo de outras plantas. As enzimas resistentes portam pequenas alterações moleculares que as tornam insensíveis ao efeito do herbicida (para o glifosato é a enzima EPSPS), ou pertencem a uma bactéria do solo que degrada esse herbicida (no caso do glufosinato), ou ainda usa-se uma enzima de outra planta resistente que é resistente ao herbicida (caso de herbicidas do grupo das imidazolinonas). É importante contar com plantas capazes de resistir a diferentes herbicidas, pois a resistência, diante do uso constante do produto, aparece sempre entre as pragas e o uso alternado desses compostos reduz, de modo satisfatório, a emergência de ervas daninhas difíceis de controlar.

FLUXO GÊNICO: QUAL É O PROBLEMA?

Como dito anteriormente, o fluxo gênico "invisível" das milhares de plantas mutagenizadas nas últimas décadas nada causou, apesar de muitos genes alterados terem sido disseminados no pólen. A grande diferença com a chegada das PGM é a possibilidade de detecção, já que sabemos quais genes foram introduzidos e temos métodos supersensíveis para detectá-los. As lavouras transgênicas seguem regras precisas de distanciamento para reduzir a níveis mínimos as transferências das características para plantas vizinhas. As poucas que ocorrem não causarão nenhum problema. Primeiro, sempre ocorreram sem consequências; segundo, um transgene é um gene como outro qualquer, a característica transferida para outra planta, fora do campo de cultivo e sem aplicação de uma pressão seletiva particular, não levará à expansão desse clone vegetal. A rara planta modificada pelo pólen com o transgene certamente não será escolhida para produzir sementes para novos plantios. A preocupação com o aparecimento de "plantas invasoras" em virtude da migração do transgene é ainda mais absurda. Todas as plantas domesticadas, convencionais ou transgênicas são eminentemente frágeis diante de qualquer planta nativa, uma característica que emergiu da perda de muitos genes. Logo, elas não têm vitalidade para competir com as plantas do ecossistema natural. O excesso de preocupação que alguns exibem revela uma visão similar às noções de pureza racial do nazismo. Nessa analogia, o transgene é de uma raça inferior ou alienígena e não pode se misturar com os demais genomas "puros" ou "superiores" por serem "naturais". A preocupação com a "contaminação" de raças crioulas também não se sustenta. Muito raramente estarão em proximidade. As variedades tradicionais crioulas sofrem constante alteração e cruzamentos nas comunidades de origem, e a melhor garantia de preservação dessa rique-

za genética está com os pesquisadores de instituições como a Embrapa, que mantêm bancos de sementes e frequentemente restauram estoques perdidos pelas comunidades tradicionais. Não há nenhuma redução de biodiversidade quando uma nova planta transgênica é introduzida. Ela representa uma nova variedade criada pelo homem, portanto aumenta a biodiversidade e o potencial de geração de novas variedades por cruzamentos convencionais com outros cultivares. A possível redução de biodiversidade na área de cultivo é fenômeno intrínseco a qualquer agricultura convencional ou GM. Seria ridículo, como querem alguns, manter uma convivência inalterada de ervas invasoras, insetos de todo tipo, aves predadoras etc. no local em que o agricultor pretende obter uma colheita abundante e sadia. Esse tipo de ambientalismo aponta claramente para uma solução que implica a redução drástica ou mesmo a eliminação dos humanos do planeta.

COMO EXPLICAR A FORTE OPOSIÇÃO EXISTENTE?

O maior núcleo da resistência aos transgênicos de plantas fica na Europa. O continente sempre exportou gente e temeu os vindos de fora. Na época dos descobrimentos, trouxeram muitas plantas de outras paragens como a batata, o café e o milho. A batata levou nada menos que 200 anos para ser aceita pelos europeus. Considerada a *Frankenfood* da época, sua aceitação foi ajudada pela quebra da safra do trigo quando eclodiu a Revolução Francesa. Agora, de maneira completamente irracional, os europeus temem consumir alimentos derivados das PGM, que há mais de uma década estão na cadeia alimentar de americanos, canadenses etc., sem qualquer problema. Um país altamente desenvolvido e educado como o Canadá estaria atuando com descaso e colocando em perigo sua população? Os cientistas das grandes academias de ciência dos Estados Unidos, do Japão e da Europa estão errados quando declaram que os alimentos transgênicos são tão seguros quanto os convencionais? É claro que não. ONG milionárias e globalizadas como a *Greenpeace* espalham inverdades e alimentam a imprensa sedenta de más notícias. As indústrias de defensivos químicos estão perdendo dinheiro com as PGM, e os agricultores orgânicos, também irracionalmente, opõem-se de maneira sistemática a uma tecnologia biológica, "verde", a qual deveriam abraçar animadamente como defendem o grande ambientalista Stewart Brand[9] e outros pesquisadores adeptos da agricultura orgânica[10,11]. É compreensível que um determinado país não queira, por motivos comerciais, comprar da Monsanto (ou de outra multinacional), mas é inaceitável, a meu ver, usar falsidades e pseudociência para alavancar uma disputa comercial. Outro elemento que alimenta a oposição é o descontentamento com as patentes no setor de sementes e com a necessidade de comprá-las a cada plantio. De modo curioso, há décadas isso ocorre com as sementes híbridas, que resultam em produto superior, como o milho híbrido, desenvolvido nos anos 1920. Em 1970, nos EUA, o milho híbrido já correspondia a 96% do total plantado, a produtividade aumentou oito vezes e os agricultores compravam as sementes. A China, em 2007, tinha 65% de seu arroz plantado com sementes híbridas. Também suscita cuidados o suposto "controle" do setor de sementes por uma gigante multinacional, a Monsanto. Essa objeção segue em dissolução à medida que outras multinacionais entram nesse mercado (Bayer, Du Pont, Syngenta) e países como China, Índia e Brasil desenvolvem transgênicos usando recursos públicos ou empresas nacionais. Com o término, em breve, de algumas patentes (como os Bt), essa tecnologia entrará para o setor público e logo teremos "genéricos" dessas sementes, a preços reduzidos. A agricultura orgânica, que deveria adotar as PGM como tecnologia verde, baniu-as, lamentavelmente. Esperamos que, em um futuro próximo, os agricultores orgânicos corrijam esse erro. Vale a pena, ainda, assistir à palestra do ambientalista Stewart Brand sobre a engenharia genética aplicada à agricultura (http://www.ted.com/talks/stewart_brand_proclaims_4_environmental_heresies.html). Também é oportuno lembrar que a adoção preconizada por alguns de uma agricultura orgânica exclusiva resultaria, em 1961, na utilização obrigatória de 82% dos solos em lugar dos 38% da época, o que representaria a invasão da Amazônia, do Saara e do delta do Okawango na África e que felizmente não aconteceu, graças à Revolução Verde dos anos 1970 e 1980, liderada pelo ganhador do Nobel da Paz, Nor-

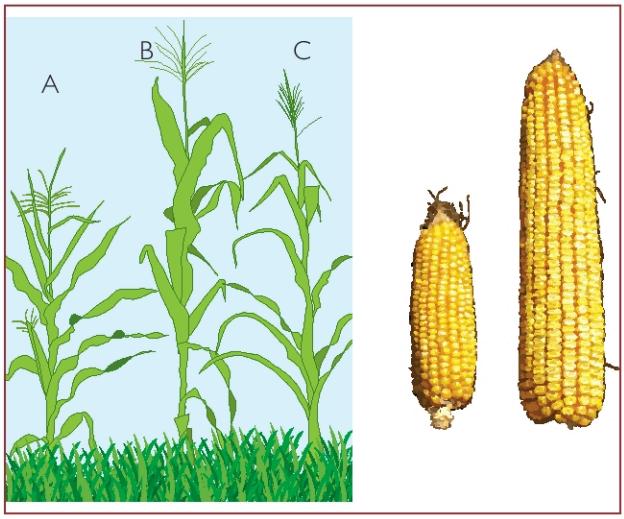


Figura 8. Linhagens puras (A, C) de milho e planta híbrida (B). A espiga das linhagens puras é a pequena, a grande é produzida pela planta híbrida.

man Borlaug. Agora, a moderna biotecnologia antevê o que Brand[9] chama de *Revolução Duplamente Verde*, pois com as PGM é possível mitigar aspectos indesejáveis da "revolução verde": uso excessivo de defensivos agrícolas e de água, pouco cuidado com a sustentabilidade do solo e vantagens desproporcionais para o grande agricultor. Brand comenta que, enquanto a Europa recusa plantar os transgênicos, os agricultores pobres dos países em desenvolvimento adotam-nos com a rapidez com que passaram a usar os telefones celulares, ambos caminhos para reduzir sua miséria.

POLÍTICA, MULTINACIONAIS E BEM PÚBLICO

Importantes objeções relativas aos transgênicos são: o monopólio ou cartelização da produção de sementes, o patenteamento e o pagamento de *royalties* pelos agricultores. São preocupações legítimas que cada país deve enfrentar. A pioneira Monsanto pressionou o governo americano para criar uma legislação excessivamente exigente para aprovação dos transgênicos[12]. Sendo poderosa, sabia que poderia pagar os custos e que seus potenciais concorrentes, como universidades e pequenas empresas, não conseguiriam competir. Portanto, não tinha nenhuma relação com segurança alimentar ou ambiental, mas sim com reserva de mercado. Os demais países imitaram cegamente os Estados Unidos e até fizeram exigências adicionais, como ocorreu na Europa e no Brasil. Os transgênicos do bem, que estão para chegar, pagam o preço absurdo da regulamentação desnecessária. Ingo Potrykus – o criador do arroz dourado, que pode salvar centenas de milhares de crianças da cegueira –, clamou, recentemente, na Nature, por uma simplificação das leis, as quais vêm atrasando a entrada no mercado de transgênicos que podem suplementar deficiências nutricionais ou funcionar como vacinas orais, entre muitas outras possibilidades excitantes[13]. O Brasil deveria ouvir essa voz e liderar a desregulamentação, como gigante que é na produção de alimentos. Poderia se tornar um país muito mais amigável para a pesquisa e experimentação com novas tecnologias de modificação genética de plantas. Atrairia capital e cérebros que a União Europeia está perdendo e estimularia o cientista empreendedor. Plantas de grande valor para populações pobres seriam criadas e distribuídas sem cobrança de *royalties* para esses países, como se tem feito em alguns casos, com o apoio de algumas empresas em parceria com fundações como Bill e Melinda Gates. Entidades como a Public IP Resource for Agriculture (PIPRA), situada na Universidade da Califórnia, em Davis, busca parcerias e o desenvolvimento de tecnologia livre para os países em desenvolvimento e o pequeno agricultor. Na África, a AATF (African Agricultural Technology Foundation) no Quênia, administrada por africanos, negocia informação e acordos de interesse para a agricultura local.

As possibilidades de gerar cultivares organicamente equipados para se ter desempenho superior e vantagens nutricionais especiais é imensa. Alguns exemplos: existem estudos em andamento para produzir mandioca mais nutritiva e sorgo fortificado para a África; um grupo de cientistas da Índia criou uma batata que pode ter até 60% mais proteína e que apresenta maior produtividade no campo, apelidada "protato"[14]. Após muitos anos de trabalho, lutando contra a oposição do *Greenpeace* e outros grupos de pressão, o arroz dourado, com genes que permitem a síntese do precursor da vitamina A, começa a ser testado no Paquistão (AgBioWorld, maio de 2011).



Figura 9. Arroz convencional e "arroz dourado" contendo a provitamina A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fedoroff N, Brown NM. Mendel in the kitchen – a scientist's view of genetically modified foods. Washington, DC: Joseph Henry Press; 2004.
2. Gladyshev EA, Meselson M, Arkhipova IR. Massive horizontal gene transfer in bdelloid rotifers. Science. 2008;320:1210-3.
3. Danchin EG, et al. Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes. Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107:17651-6.
4. Anderson MT, Seifert AS. Opportunity and means: horizontal gene transfer from the human host to a bacterial pathogen. mBio 20121;2:e00005-11.
5. Teixeira AR, et al. Trypanosoma cruzi in the chiken model: Chagas-like hearth disease in the absence of parasitism. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5:e1000.
6. Batista R, Saibo N, Lourenço T, Oliveira MM. Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:3640-5.
7. Smith DR, Quinlan AR, Peckham HE, Makowsky K, Tão W, Woolf B, et. al. Rapid whole-genome mutational

profiling using next-generation sequencing technologies. Genome Res. 2008;18:1638-42.
8. Bakan B, Melcion D, Richard-Molard D, Cahagnier B. Fungal growth and fusarium mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. J Agric Food Chem. 2002;50:728-31.
9. Brand S. Whole earth discipline, an ecopragmatist manifesto. New York: Viking; 2009.
10. Ronald P, Adamchak R. Tomorrow's table: organic farming, genetics, and the future of food. New York: Oxford University Press; 2008.
11. Scheifler MR. More sustainable food: genetically modified seeds in organic farming. Prêmio do Asturias Intitute Society of Bioethics, 2009. País Basco, Espanha.
12. Miller HI. The biotechnology industry's Frankensteinian creation. Trends in Biotecnology. 2001;200.
13. Potrykus I. Regulation must be revolutionized. Nature. 2010;466:56.
14. Chakraborty S, et al. Next-generation protein-rich potato expressing the seed protein gene AmA1 is a result of proteome rebalancing in transgenic tuber. Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107:17533-8

capítulo 19

Memórias da biossegurança e biosseguridade: de Asilomar à biologia sintética

Leila Macedo Oda
Bruna C. Santos

HISTÓRICO DA BIOSSEGURANÇA

A palavra *biossegurança* foi introduzida em nosso vocabulário oficialmente a partir da Lei n. 8.974, de 1995; a chamada Lei de biossegurança transcende o campo de abrangência jurídica da Lei brasileira atual, dentro da esfera do conhecimento científico mundial[1]. Os textos e manuais de biossegurança, editados em todo o mundo, apontam-na como um conceito mais amplo, em que o risco – ou a probabilidade – de determinado dano ocorrer, passa a ser objeto da pesquisa dessa nova ciência. O risco biológico, ao qual estão sujeitos os pesquisadores ou profissionais que atuam em laboratórios e ambientes nos quais estão presentes microrganismos, é apenas um dos segmentos de atuação da biossegurança como disciplina científica[2-7].

Os estudos de Meyer e Eddie[8], seguidos pelos de Sulkin e Pike[9], constituem os marcos históricos do processo de análise de risco de atividades com agentes biológicos, que originaram procedimentos de contenção e de controle que vão compor, no futuro, o contexto dessa nova ciência. Em 1979, em sua clássica revisão sobre infecções laboratoriais, Pike concluiu que "o conhecimento de técnicas e equipamentos para prevenção da maioria das infecções laboratoriais já é disponível sem, entretanto, definir um código de práticas ou normas para o manejo desses riscos no laboratório"[10].

Em 1974, a primeira edição da Classificação de Agentes Etiológicos com Base no Risco[11] apresentou, pela primeira vez, os critérios para dimensionamento do risco biológico e os procedimentos necessários para a minimização do mesmo, estabelecendo quatro níveis de risco para os agentes microbianos. Ao editar o primeiro Manual de biossegurança no mundo, em 1984, o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos – CDC[2] fez referência, pela primeira vez, à biossegurança (*biosafety,* em inglês) como um conjunto de procedimentos, práticas e instalações voltadas para controlar o biorrisco, ou seja, o controle do risco advindo de patógenos.

Os critérios utilizados na classificação esquemática gerada para os agentes etiológicos de então, são referências até hoje na classificação de risco de novos agentes como, por exemplo, o caso de organismos geneticamente modificados (OGM). As descrições dos níveis de segurança de 1 a 4 como forma de manejo de riscos para pesquisas, tanto em pequena como em grande escala, com DNA recombinante, por exemplo, são consistentes com os critérios originais de classificação de risco para agentes etiológicos convencionais[7,12].

A partir dos primeiros experimentos de Cohen et al.[13], surgiram inquietudes no seio da comunidade científica da época quanto ao redimensionamento e controle dos riscos advindos da chamada tecnologia do DNA recombinante. Objetivando o estabelecimento de regras claras quanto ao controle desses riscos, realizou-se a conferência de Asilomar, na Califórnia, na qual foram apontados critérios éticos e procedimentos operacionais que garantiriam o desenvolvimento seguro dentro de premissas éticas, os novos ensaios no campo da engenharia genética[14]. Essa conferência marcou também o início de uma série de discussões polêmicas entre os

pesquisadores e a sociedade acerca do binômio risco-benefício, que tais técnicas trariam para o desenvolvimento de novas espécies[15].

Como princípio basilar da biossegurança, a contenção e o manejo de risco representam o caminho seguro de proceder como forma de alcançar a minimização do risco. Quando falamos de risco é importante referir que este conceito está ligado a um processo probabilístico e que inexiste risco zero para qualquer atividade no campo das ciências da vida, pois é neste contexto que atua a biossegurança ou a ciência que busca aproximar o risco de valores próximos ao zero[7,16].

A evolução histórica do conceito de risco e a sua percepção ao longo do tempo, representa a evolução da biossegurança como ciência. Das práticas menos complexas às mais avançadas utilizadas no estudo das doenças ao longo da humanidade, especialmente no que concerne às noções de contágio, o aspecto prevenção do risco de exposição permaneceu até bem pouco tempo como aspecto quase irrelevante. Mesmo diante desta realidade, a história da medicina registrou algumas tentativas de prevenção que hoje identificamos como a origem desta ciência. Em 1956, por exemplo, durante o flagelo da peste ocorrido na Europa, alguns médicos usavam um "equipamento" para sua proteção composto de chapéu, luvas de couro e máscara com bico longo e afunilado, no qual eram colocadas ervas aromáticas de efeito antisséptico (Figura 1). Os procedimentos de prevenção destinados à segurança do pesquisador, do objeto pesquisado e das condições ambientais do entorno onde a pesquisa se realiza, são elementos fundamentais para minimização do risco e constituem o campo de ação da biossegurança como ciência[4].

Embora a lei de biossegurança tenha introduzido a palavra na língua portuguesa, conceitualmente a sua definição como uma ciência só é oficializada através da política nacional de biodiversidade, publicada em 2000[17]. No referido texto, biossegurança é definida como "Ciência voltada para o controle e minimização de riscos advindos da prática de diferentes tecnologias, seja em laboratório, seja aplicadas ao meio ambiente", em que o fundamento básico da biossegurança é assegurar o avanço dos processos tecnológicos e proteger a saúde humana, animal e do meio ambiente.

Os manuais de biossegurança surgem a partir de 1984, como códigos norteadores de condutas e práticas adequadas que possibilitem o controle e a minimização do risco[2,7]. O símbolo do biorrisco (Figura 2), atualmente de domínio público, foi criado por Emmet Barkley, quando diretor do escritório de segurança do instituto nacional de saúde dos Estados Unidos, no início da década de 1980, com o objetivo de identificar e alertar sobre a presença do risco de origem biológica. Ele foi apresentado pela primeira vez na capa da primeira edição do Manual de Biossegurança do CDC[2] e representa as três objetivas de um microscópio quando olhadas em perspectiva, alertando ao pesquisador para a origem invisível e microscópica do risco biológico[18].

Conferência de Asilomar (1975) – Alertando para o risco de novas tecnologias

Em fevereiro de 1975, foi realizada uma reunião de 140 cientistas norte-americanos e estrangeiros no Centro de Convenções de Asilomar, localizado em Pacific Grove, Califórnia (Figura 3).

Esta reunião científica decorreu da proposta de moratória nas pesquisas que envolvessem manipulação genética, feita em 1974, por um grupo de pesquisadores. Esta sugestão foi publicada simultaneamente nas revistas Nature e Science. Em abril de 1974, esta moratória foi discutida e implantada em uma reunião científica realizada no Massachusetts Institute of Technology (MIT).

Nesta ocasião ficou decidido que o Comitê Assessor para DNA Recombinante (RAC), que havia sido criado em 1974, seria o responsável pela elaboração das diretrizes de Asilomar para a segurança dos experimentos com este tipo de DNA. Este documento ficou pronto em 23 de junho de 1976.



Figura 1. Roupa utilizada por médicos na Idade média como forma de proteção.



Figura 2. Símbolo universal do risco biológico.

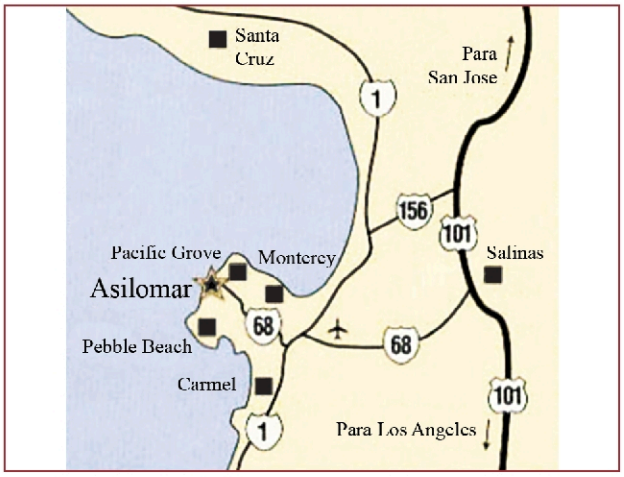


Figura 3. Centro de Convenções Asilomar.

A reunião de Asilomar é um marco na história da ética aplicada à pesquisa, pois foi a primeira vez que foram discutidos os aspectos de proteção aos pesquisadores e demais profissionais envolvidos nas áreas em que se realiza um projeto de pesquisa com material biológico.

Dados históricos no Brasil sob a perspectiva do risco

Os registros históricos do desenvolvimento da pesquisa no campo da microbiologia no Brasil, estão repletos de exemplos nos quais o pesquisador e o objeto da pesquisa se confundem a partir do conhecimento e da percepção do risco por parte do indivíduo. Os registros de Manguinhos apresentam exemplos memoráveis no transcurso das pesquisas em laboratórios, em que o método científico, o nível da consciência para o risco e os critérios de segurança, constroem o tripé basilar para a instituição da biossegurança como nova ciência no país[19].

Adolpho Lutz foi um dos cientistas que mais se empenhou na busca de respostas para desvendar a etiologia das doenças, não medindo esforços e até expondo o seu próprio corpo a picadas de mosquitos originários de regiões infestadas, para descrever o ciclo de transmissão da febre amarela[20].

Outro fator curioso que mostra e referencia a aceitação do risco biológico por Lutz foi quando, em trabalho de pesquisa na região Nordeste do Brasil, ao desejar transportar larvas até seu laboratório, em Manguinhos, colocou-as dentro de minúsculas garrafas, as quais engoliu. Desta forma, Lutz pode manter as condições ideais de temperatura – a do seu próprio corpo –, o que permitiu a sobrevivência das larvas[20].

No campo da helmintologia, José Gomes de Faria, pesquisador que afirmava que *Ancylostoma braziliense* era o agente causador da chamada dermatose linear, submeteu-se a autoinoculação com o parasita. Naquela época, tais experimentos eram considerados como únicos em humanos tolerados sob o ponto de vista ético. Já nesta época, pode-se tentar estabelecer um paralelo entre bioética e biossegurança, lembrando que a primeira tem origens filosóficas enquanto a segunda adota o método científico, no qual os procedimentos utilizados na análise visam mensurar o risco. Como referência histórica no Brasil, de infecção adquirida durante o trabalho de pesquisa e que se constitui campo de estudo da biossegurança, podemos citar Gaspar Viana, brilhante cientista que, em curto espaço de tempo – entre 1908 a 1914 –, publicou 24 trabalhos científicos nos campos de leishmanioses e doença de Chagas[21]. A brilhante carreira de Viana foi bruscamente interrompida quando o cientista foi vítima de uma contaminação ao realizar autópsia em um cadáver vítima de tuberculose. Seu conhecimento e experiência não foram suficientes para garantir sua segurança, pois, estando alheio ou subestimando os riscos, não utilizou qualquer dispositivo de segurança, como luvas ou máscaras, para realizar seu trabalho e poupar sua vida.

O conceito de risco está intimamente relacionado à existência de componente de natureza física, química, biológica ou radioativa que possa comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos[4]. O risco percebido quase sempre diverge do mensurado ou avaliado. Enquanto o primeiro é temporal, dependente de variáveis, na maioria das vezes, não controladas e de natureza subjetiva, o mensurado (ou risco real) é função do somatório de possibilidades dentro do cenário de resultados científicos obtidos. O risco percebido pode ser distinto até mesmo entre pessoas diferentes, já o valor do risco avaliado só é alterado quando da introdução de novos parâmetros científicos que alterem situações e padrões descritos previamente pela metodologia científica aplicada[22]. As experiências vividas por Lutz, Viana e Faria e tantos outros mártires da ciência em nosso país, que constituem exemplos que referenciam a importância da biossegurança, mostram bem a distinção entre esses dois enfoques da questão relativa ao risco (avaliação e percepção do risco).

Origem da lei de biossegurança brasileira

Os novos conhecimentos gerados pela pesquisa biotecnológica, a partir da década de 1970, levaram cada vez mais a opinião pública a uma reflexão profunda sobre os impactos desta ciência na sociedade, sobretudo

nos setores econômicos junto ao poder público, com relação à promoção, gerenciamento e controle dos resultados dessas pesquisas. Neste cenário, tem sido observadas reações de apoio aos bens gerados por essa tecnologia e reações negativas, próprias de cada inovação tecnológica que foge ao conhecimento comum[23].

A estrutura organizacional do estado brasileiro permite hoje que a sociedade estabeleça um controle efetivo mais rigoroso dos possíveis riscos advindos da tecnologia do DNA recombinante ou biotecnologia moderna. A biossegurança é entendida como o conjunto de medidas que permite o uso seguro da engenharia genética e dos diversos experimentos oriundos dessa área de conhecimento. É, portanto, a lei de biossegurança brasileira uma lei específica para um segmento tecnológico, não abrangendo, entretanto, todas as atividades que envolvam risco biológico.

No campo de análise de risco de OGM, esfera de ação da lei de biossegurança, o Brasil vem empreendendo esforços para alcançar um patamar de qualidade internacional de desenvolvimento. Uma aprovação comercial para plantio de uma variedade transgênica, resulta de diversas pesquisas laboratoriais e ensaios de campo que envolvem anos de pesquisa e que requerem etapas importantes para avaliação de risco e aplicação de preceitos de biossegurança, até que se obtenha a conclusão final sobre a segurança do produto[24].

O sistema legal de biossegurança é peculiar a cada país, mas três fatores são comuns a todos eles: a necessidade de formação de recursos humanos, a exigência de marcos legais e a necessidade de infraestrutura de pesquisa e desenvolvimento tecnológico. Existem dois modelos legais para avaliação de riscos de produtos produzidos pela tecnologia do DNA recombinante: um baseado no produto final sem levar em conta o método e produção e, estabelece para isto, uma estrutura legal específica, que prevê uma análise caso a caso de cada produto advindo da tecnologia do DNA recombinante. Este último modelo é adotado pelos países europeus, Austrália, Japão China e Brasil.

Com o acelerado desenvolvimento da moderna biotecnologia nas décadas de 1970 e 1980 diversos países, no ano de 1992, firmaram acordo multilateral para a promoção e o desenvolvimento seguro da moderna biotecnologia durante a convenção da diversidade biológica, tendo o programa das Nações Unidas para o meio ambiente publicado e, logo em seguida, as primeiras diretrizes internacionais para os procedimentos seguros no campo da biotecnologia moderna. Diante do cenário internacional que apontava para a necessidade de adoção de medidas precautórias para o uso da tecnologia do DNA recombinante, o Brasil optou pelo modelo regulatório específico desta tecnologia, aprovando no Congresso Nacional, em 1994, o projeto de lei de autoria do senador Marco Maciel, que regulava apenas as atividades de engenharia genética no país, à semelhança do modelo regulatório dos países Europeus.

A Lei n. 8.974, de 1995, a chamada Lei de Biossegurança, foi então promulgada pelo poder Executivo, sofrendo dois vetos nos arts. 5° e 6°, que versavam sobre a criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio no âmbito da Presidência da República e que lhe atribuía as competências respectivas. A lei de Biossegurança vem regulamentar o art. 225, da Constituição Federal, que objetiva a proteção do meio ambiente a preservação da diversidade biológica e da saúde da população. Os vetos do poder aos arts. 5° e 6° da lei aprovada pelo Congresso Nacional, levaram a conflitos jurídicos posteriores entre a lei de biossegurança e a lei ambiental, no que diz respeito à competência da CTNBio em estabelecer critério decisório sobre a exigência ou não de prévio Estudo de Impacto Ambiental (EIA) para organismos geneticamente modificados[25].

Marcos regulatórios sobre os organismos geneticamente modificados no Brasil nos dias de hoje

No Brasil, desde 1995, as atividades no âmbito da engenharia genética, pesquisa de laboratório ou campo e o desenvolvimento e uso de produtos, são regulamentadas por lei. Nunca se teve uma lei em vigor proibindo o desenvolvimento da engenharia genética e uso de seus produtos.

Foi a Lei n. 8.974, de 05 de janeiro de 1995, que estabeleceu um mecanismo de controle das atividades com engenharia genética e um sistema de avaliação de biossegurança dos produtos oriundos desse ramo do saber, que são mantidos até hoje com poucas alterações. Mesmo com a revogação da Lei n. 8.974/95 pela Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005, o sistema não foi modificado. A Lei n. 11.105/2005 não modificou a estrutura do sistema de controle e avaliação já existente, apenas corrigiu alguns pontos que suscitavam dúvidas e conflitos e reduziu o trâmite burocrático para a realização de pesquisas.

Entretanto, mesmo sendo uma atividade controlada, a engenharia genética, desde 1995, está no meio de uma polêmica que já motivou diversas ações judiciais, publicação de Medidas Provisórias e inúmeras manifestações favoráveis e contrárias aos produtos produzidos por meio do uso dessas técnicas.

Seguramente uma das ações judiciais mais conhecidas é a que se originou com a contestação do Comunicado n. 54, de 29 de setembro de 1998, da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. Publicado no *Diário Oficial da União* no dia 1º de outubro de 1998, o Comunicado n. 54 é o parecer técnico da CTNBio emitido no Processo n. 01200.002402/98-

60 para o pedido de liberação comercial da soja geneticamente modificada tolerante a herbicida à base de glifosato.

Neste parecer a CTNBio informa ter concluído, durante a análise do processo, que não há evidências de risco ambiental ou à saúde humana ou animal decorrentes da utilização da soja analisada, geneticamente modificada. Diante da conclusão de não haver evidências de riscos para o meio ambiente, a CTNBio não exigiu estudo de impacto ambiental da atividade.

O parecer da CTNBio foi questionado pela Justiça Federal e o então Juiz Titular da 6ª Vara Federal do Distrito Federal desconsiderou o parecer técnico da CTNBio e determinou a realização de EIA para o plantio da soja geneticamente modificada.

Na decisão judicial proferida em 1998, reiterada em junho de 2000, nos autos do processo n. 19983400027681-8, o Juiz Federal argumentou que "sem contabilizar exageros, creio que a velocidade irresponsável que se pretende imprimir nos avanços da engenharia genética, nos dias atuais, guiada pela desregulamentação gananciosa da globalização econômica, poderá gerir, nos albores do novo milênio, uma esquisita civilização de 'aliens hospedeiros', com fisionomia peçonhenta, a comprometer, definitivamente, em termos reais, e não fictícios, a sobrevivência das futuras gerações de nosso planeta".

Entretanto, como a maioria daqueles que no final do século passado argumentavam contra os transgênicos, o Juiz Federal não fundamentou suas opiniões com dados e informações capazes de sustentar a argumentação catastrófica que utilizou em sua sentença. Ficou, também, somente no campo da opinião, do "poderá".

Além de argumentos dessa natureza, oriundos de representantes do Poder Judiciário, o avanço da biotecnologia moderna no Brasil enfrentou e ainda enfrenta uma forte campanha contra o desenvolvimento e uso comercial dos transgênicos: a Campanha por um Brasil Livre de Transgênicos. Essa campanha, criada em 1999, é capitaneada por várias Organizações não Governamentais (ONG), possui portal na internet e mantém a divulgação de um boletim eletrônico que veicula informações contra o uso dos transgênicos.

Mas não só discussões judiciais infindáveis e movimentos sociais contrários serviram para fomentar a polêmica e criar um ambiente difícil para a introdução de produtos transgênicos no sistema produtivo nacional. Um emaranhado de regulamentos burocráticos foi construído no âmbito do Governo Federal e só deixou de existir após a publicação da Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005 (conhecida como revisão da Lei de biossegurança de 1995). Também ações realizadas no âmbito dos Estados contribuíram para ampliar a polêmica e dificultar o processo de introdução de organismos geneticamente modificados (OGM) na matriz produtiva Brasileira, especialmente a produção agrícola. O Supremo Tribunal Federal (STF) declarou inconstitucional em sua totalidade a Lei n. 14.162/2003, do Governo do Estado do Paraná, que foi contestada por meio da Ação Direta de Inconstitucionalidade (ADI) n. 3.035, que afrontava a regra constitucional de competência concorrente entre União e Estados ao proibir o cultivo de transgênicos no Estado.

Percepção pública da Biossegurança no cenário brasileiro

A biotecnologia cresceu de forma assustadora nos últimos anos com a incorporação das técnicas do DNA recombinante e os avanços da biologia sintética, e vem tomando parte na maioria das atividades humanas gerando impactos na medicina, na agricultura, no meio ambiente e na ciência de alimentos. A biotecnologia tem sido considerada como um dos ramos da ciência mais promissores para a economia dos países. Mesmo diante dessas possibilidades e benefícios, esses avanços têm gerado apreensões para diferentes sociedades que, diante de um novo paradigma tecnológico, evocam preceitos éticos e riscos percebidos diante do desconhecimento[26].

O dilema da sociedade em optar pela melhor alternativa torna-se ainda mais difícil quando existe carência de informações científicas ou mesmo quando aquelas desprovidas de base científica frequentemente são disseminadas pela mídia. Embora exista grande apoio e aceitação pública para as aplicações médicas da biotecnologia, existe uma baixa aceitação no Brasil para o uso de animais transgênicos e para culturas agrícolas modificadas geneticamente[26]. Como a biotecnologia, ao avançar, afeta os cidadãos, as sociedades tendem a considerar mais aceitável os avanços cujas aplicações são imediatas e importantes no seu dia a dia: as diferenças entre risco percebido e risco avaliado levam a um maior ou menor grau de aceitação pública de um processo tecnológico entre diferentes sociedades.

A percepção e a aceitação pública de uma dada tecnologia se sustentam na demonstração do real benefício que esta traz para aquela sociedade. A aceitação de uma nova tecnologia depende de vários fatores, na maioria social, cultural, econômico, religioso e educacional, sendo a capacidade de entendimento da sociedade de perceber a importância daquela tecnologia para resolver seus problemas diários um componente fundamental no processo[26].

A distância entre os avanços científicos e a capacidade de entendimento e percepção desses avanços pela sociedade tem levado à imposição de barreiras para a adoção de alguns avanços científicos ao longo da his-

tória da humanidade. Por exemplo, quando o cientista Edward Jenner descobriu a vacina contra a varíola em 1778, tanto a comunidade científica como a sociedade da época não aceitaram prontamente esta nova técnica. Por este motivo, a vacina contra a varíola só pôde efetivamente ser aplicada 60 anos após a descoberta de Jenner.

A partir dos anos 1970, a introdução da tecnologia dos transgênicos deu início a um novo paradigma científico por meio do qual genes podem ser transferidos de uma espécie para a outra, originando novos campos do conhecimento, as chamadas ciências da vida. Semelhante ao que aconteceu no passado com a descoberta das vacinas, as sociedades começaram a questionar sobre a segurança e a ética de tais experimentos.

Hoje, a implementação efetiva da Lei de Biossegurança Brasileira depende fundamentalmente de um entendimento público e jurídico sobre o papel da CTNBio e da aceitação, por parte da sociedade brasileira e do governo, deste modelo regulatório instituído pelo Congresso Nacional para o Brasil. O atraso evidenciado nos últimos anos na implementação de uma política nacional de biossegurança se verifica sobretudo pela falta de um consenso político por parte do governo e por dificuldades interpretativas no âmbito do judiciário quanto à análise dos diferentes instrumentos legais existentes no país que se aplicam ao tema.

Infelizmente no Brasil há uma grande carência de estudos recentes e representativos sobre a informação e aceitação pública[27,28] em relação aos transgênicos.

Os resultados apresentados devem ser considerados criticamente, incluindo uma margem inevitável de erro. O termo "biotecnologia", por exemplo, tem aceitabilidade 10 a 20% maior que "organismos geneticamente modificados" em alguns países[29], mas a terminologia tende a ser usada de forma indiferenciada e muitas vezes confusa. Um exemplo que gera confusão, é o uso do termo OGM para os transgênicos, tanto na literatura técnica como nos veículos de comunicação e divulgação científica, dando a impressão errônea que apenas os transgênicos são modificados geneticamente e, portanto não são naturais – e ser natural é uma condição que costuma ser melhor considerada. Pesquisas feitas pelo Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística (IBOPE)[30] encomendadas por Monsanto e Greenpeace mostram uma enorme diferença de resultados de aceitação pública em um período muito pequeno de tempo (UFSCar[31]) e deixam dúvidas óbvias sobre a influência da informação fornecida e da formulação das perguntas feitas nas respostas dos entrevistados[27].

Os resultados das pesquisas na internet não são representativos pois obviamente se limitam a um tipo específico de visitante, que tende a simpatizar ou identificar-se com as posições dos respectivos sites nos quais tais pesquisas são realizadas. Nos primeiros anos a mídia priorizava os diferentes riscos sociais para a saúde humana e ambiental da nova tecnologia, mas essa situação vem mudando e a discussão acerca de sua segurança e dos benefícios econômicos e ambientais que os transgênicos podem trazer para o país também vem sendo apresentada. Se hoje a população brasileira está consciente dos riscos e benefícios, qual a importância na decisão de compra de variáveis como preço, qualidade dos alimentos, aumento de valores nutricionais e benefícios ambientais, como redução de agroquímicos? Se há condições de entender as informações factuais a ela apresentada, que níveis de confiança tem nos diferentes grupos que divulgam informação? A resposta para essas e outras dúvidas será certamente a capacitação científica e a existências de programas de socialização do conhecimento científico, permitindo que a ciência fique cada vez mais próxima da sociedade.

Capacitação de recursos humanos

A biossegurança representa um campo do conhecimento científico relativamente novo. Antes de 1976 pouco se sabia os procedimentos de avaliação e controle de riscos e a biossegurança se restringia a informação sobre os riscos inerentes ao campo das pesquisas científicas[32]. Em 1980 foi fundada a Associação Americana de Biossegurança – ABSA, a primeira sociedade científica no mundo constituída tendo como ponto focal o desenvolvimento profissional da biossegurança como disciplina científica. Esta entidade propicia o intercâmbio científico no campo dos procedimentos de avaliação e manejo de risco, capacitação de recursos humanos e divulgação científica por meio de publicações nos vários segmentos da biossegurança[33]. No Brasil, a biossegurança começa a ser institucionalizada a partir da década de 1980 quando o Brasil toma parte de um programa de treinamento internacional em biossegurança ministrado pela Organização Mundial de Saúde que visa estabelecer pontos focais na América Latina para o desenvolvimento do tema. Como resultado deste treinamento é realizado o primeiro curso de biossegurança para o setor da saúde na Fundação Oswaldo Cruz, em 1985. Na mesma época, a instituição deu início ao processo de implementação de medidas em biossegurança como parte do processo de boas práticas de laboratório. Este trabalho motivou na sequência a uma série de cursos e atividades em biossegurança no país[22]. Em 1991, a Escola Nacional de Saúde Pública da Fiocruz iniciou curso de aperfeiçoamento em biossegurança e em 1992 a biossegurança passou a constar como disciplina dos cursos de pós-graduação no Instituto Oswaldo Cruz. A partir de meados da década de 1990 a biossegurança passou a ser ministrada como disciplina científica em

várias universidades brasileiras e, finalmente, a partir de 2002 foi estabelecido o primeiro curso de pós-graduação em biossegurança na Universidade Federal de Santa Catarina com apoio do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)[34].

Em 1995, o Ministério da Saúde incluiu como meta prioritária a capacitação em biossegurança das instituições de saúde no projeto de capacitação científica e tecnológica para doenças emergentes e reemergentes. O programa de capacitação no campo da biossegurança desenvolvido a partir de 1996 pelo Ministério da Saúde e pelo Núcleo de Biossegurança da Fiocruz teve dois enfoques: o desenvolvimento de um plano de identificação de riscos e o treinamento de profissionais em áreas estratégicas identificadas. O principal resultado deste trabalho foi a conscientização para a biossegurança nos laboratórios de saúde pública de todos os estados da federação treinando cerca de 800 profissionais e a formalização de comitês de biossegurança nessas instituições[24].

O estabelecimento da lei de biossegurança no país em 1995 e a necessidade de consolidar no país uma instância científica que permitisse a disseminação da informação em biossegurança, à semelhança do papel da Associação Americana de Biossegurança (ABSA) e da Associação Europeia de Biossegurança (EBSA) levou à fundação, no Brasil, da Associação Nacional de Biossegurança (ANBio). A ANBio é filiada tanto à ABSA quanto à EBSA e participa dos encontros internacionais e das publicações científicas de ambas as entidades, propiciando com isto o permanente intercâmbio de informações em biossegurança entre países. Nos seus doze anos de existência, a ANBio já realizou sete congressos nacionais, diversos simpósios latino-americanos e mais de 40 cursos de capacitação em biossegurança nos mais diversos temas, treinando mais de 4.000 profissionais no país e apoiando a consolidação da disciplina científica nos cursos de pós-graduação de universidades brasileiras.

O fortalecimento de recursos humanos no campo da biossegurança e o desenvolvimento de pesquisas nas temáticas de avaliação e manejo de risco são fundamentais para a consolidação da biossegurança como disciplina no país. Para isto, deve-se constituir como política de governo o apoio às ações e iniciativas que possibilitem o intercâmbio científico entre o Brasil e outros países e que viabilizem a difusão do conhecimento científico para a sociedade brasileira. Somente dispondo de uma estratégia que permita o acesso rápido à informação científica, o aperfeiçoamento da qualidade do trabalho, a disponibilização dos novos conhecimentos científicos para a sociedade e a maximização das potencialidades do setor que o país poderá incorporar de forma rápida e benéfica os novos avanços tecnológicos e competir em igual condição com os demais países nos segmentos do comércio internacional.

BIOSSEGURIDADE – O QUE DIFERE DA BIOSSEGURANÇA?

Biosseguridade é uma palavra relativamente nova em nosso vocabulário e é encontrada em poucos dicionários. Sua tradução do inglês *biosecurity* foi recentemente incorporada ao nosso linguajar existindo, entretanto, alguns conflitos conceituais. Dentre as definições distintas a respeito do termo biosseguridade, as três possíveis são:

1. uma forma de aumentar as medidas nacionais contra as armas biológicas e o controle de pesquisas de uso dual;
2. uma forma de aumentar e fortalecer os esforços nacionais e internacionais para investigar se há, ou não, alguma doença que possa alterar o sistema social; e
3. uma medida para aumentar a capacidade internacional de responder, investigar e mitigar os efeitos do uso terrorista de toxinas e armas biológicas.

Estas três definições têm implicações totalmente diferentes para qualquer país que as use. Em seu sentido geral ela significa o estabelecimento de um nível de segurança de seres vivos por intermédio da diminuição do risco de ocorrência de enfermidades agudas e/ou crônicas em uma determinada população pelo uso deliberado de um agente biológico. Este conceito geral é aplicável à populações de qualquer espécie animal bem como para a espécie humana. A implantação de bons programas de biosseguridade se inicia na elaboração de ações de controle a serem estabelecidas e seguidas nas normas específicas e finda na aplicação prática destas no campo e nas atividades diárias[35]. Segundo Sesti[36], "o termo biossegurança é frequentemente e erradamente utilizado em substituição à Biosseguridade. Estes termos têm conceitos diferentes embora a primeira vista pareçam significar o mesmo". A biosseguridade foi definida como a prática de medidas que visam minimizar riscos e impactos de enfermidades ou presença de resíduos (biológicos, químicos ou físicos) em populações animais ou nos produtos derivados destes[37]. A biossegurança, de uma maneira geral, indica aquelas normas e procedimentos relacionados com a saúde humana, os quais são permanentes e normalmente inflexíveis, a não ser para se tornarem ainda mais restritivos. Já biosseguridade indica diretamente algum procedimento que previne eventos relacionados entre si, na saúde humana bem como na produção animal e vegetal. Trata de temas estratégicos para o Brasil, sendo analisada à luz da pos-

sibilidade da ocorrência de uma pandemia de *influenza*, por exemplo.

De forma didática é importante conceituar que enquanto a *biossegurança* visa proteger o *homem* do agente biológico, a *biosseguridade* visa proteger o agente biológico de ser usado indevidamente pelo *homem* (grifo nosso).

Talvez a diferença mais importante entre estes dois conceitos seja o fato de que normas de biossegurida-

de devem obrigatoriamente ser flexíveis e adaptáveis às situações de evolução do sistema de produção e/ou situações emergenciais, enquanto normas de biossegurança preconizam a máxima proteção (próxima a 100% de segurança) (Figura 4). Aparentemente, não haveria maiores consequências em utilizar ambos conceitos em diferentes situações (Figura 5). No entanto, na prática, esta mistura de conceituações ocasiona confusão durante a elaboração e implantação de programas de biosse-

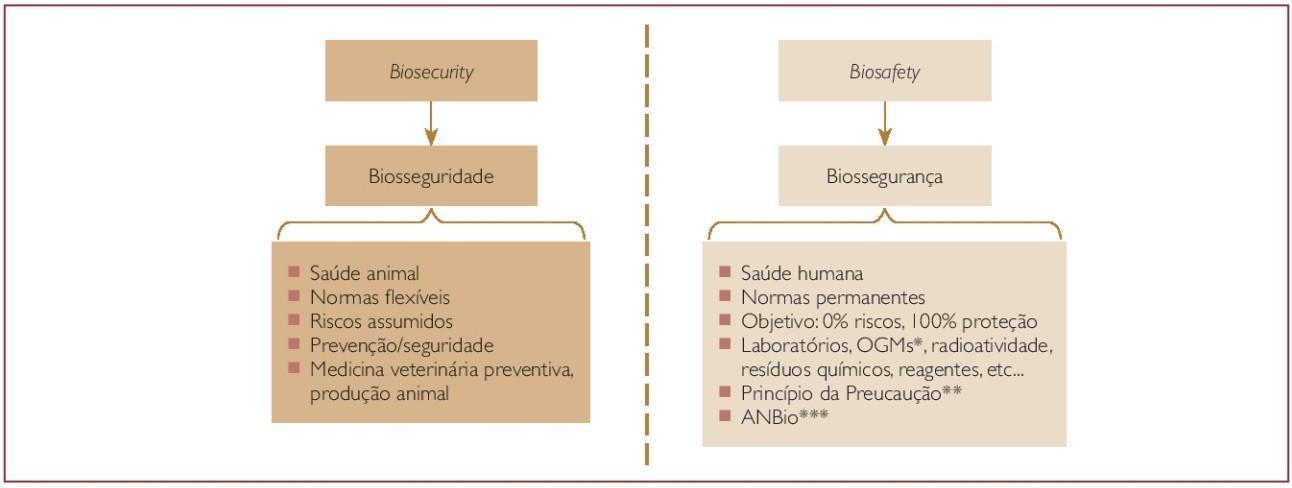


Figura 4. Origem e significado geral dos termos biosseguridade e biossegurança.
* OGM: organismos geneticamente modificados; ** Fonte: Harremoës et al., 2002[38]; Goldim, 2004[39]; Unep, 2004[40]; *** ANBio: Associação Nacional de Biossegurança – www.anbio.org.br.

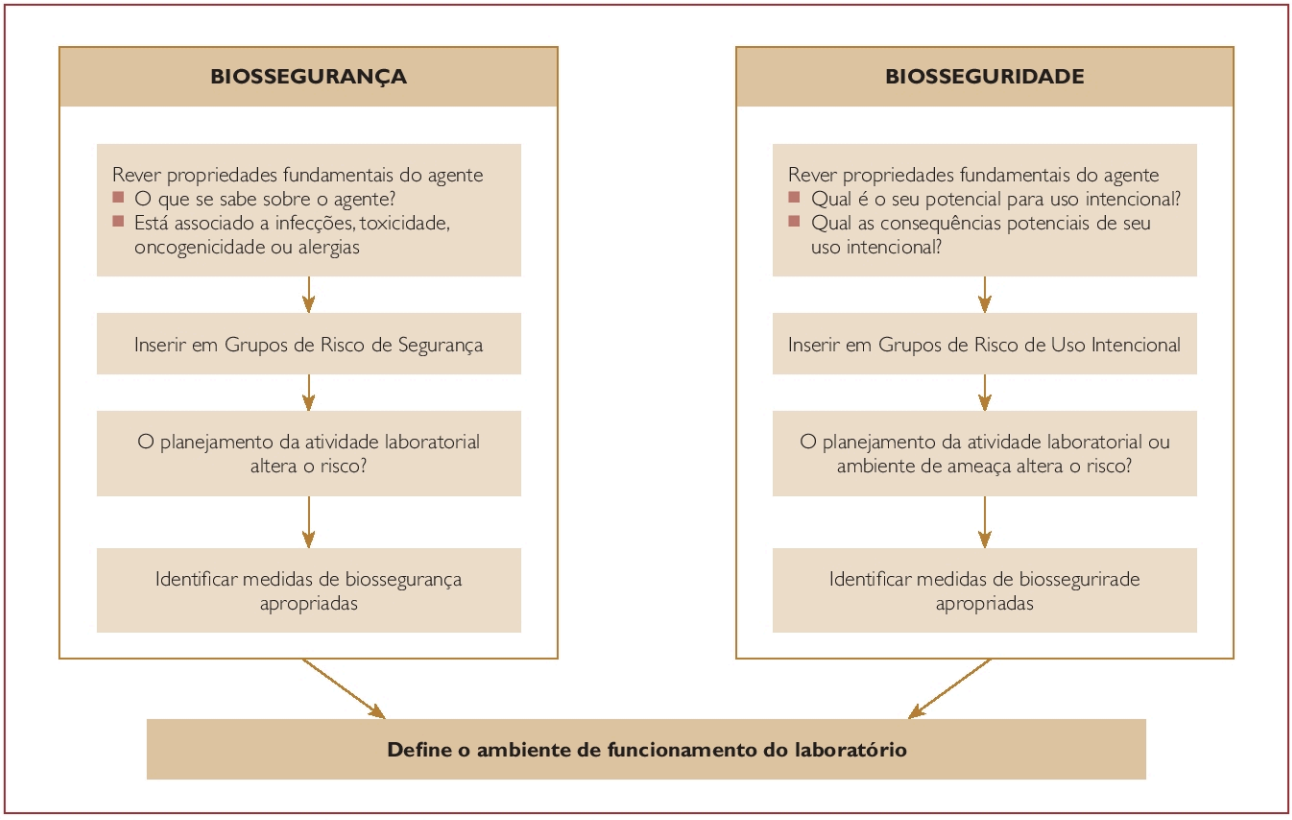


Figura 5. Complementaridade entre biossegurança e biosseguridade.

guridade. Um programa de biosseguridade é composto por um conjunto de medidas e procedimentos de cuidados com a saúde do plantel, por exemplo, aplicados em todas as etapas e interagindo com os diversos setores que compõe o sistema produtivo[41]. Os benefícios de um programa de biosseguridade abrangem várias áreas. Entretanto, antes da elaboração e implantação de qualquer programa de biosseguridade, é necessário que seja realizada uma análise e definição dos riscos e desafios aos quais o sistema de produção está sujeito[42].

Componentes da biosseguridade

Como relatado, biosseguridade são procedimentos desenhados para principalmente prevenir a entrada e a disseminação de enfermidades em um sistema de produção de animais ou ainda para prevenir o uso indevido de agentes biológicos (furto e/ou ações de terroristas). Para a situação pecuária isto é alcançado via manutenção de menor fluxo possível de organismos biológicos (vírus, bactérias, parasitas, fungos, roedores, animais silvestres, pessoas, etc.) por meio das divisas do sistema de produção. Nenhum programa de prevenção de doenças será efetivo sem este procedimento básico. A biosseguridade tem basicamente oito componentes principais que funcionam como elos de uma corrente. Ou seja, um programa de biosseguridade somente alcançará pleno sucesso quando todos os elos desta corrente estiverem firmemente unidos uns aos outros. Cada um destes elos necessita permanente manutenção e revisão para se evitar pontos de enfraquecimento na corrente e consequente falha na biosseguridade do sistema (Figura 6).

A biosseguridade visa garantir o desenvolvimento científico e tecnológico sustentável: economicamente viável, socialmente justo e ecologicamente sustentável e garantir os direitos constitucionais à vida, à saúde e ao meio ambiente ecologicamente equilibrado.Quando considerado o manejo do agente biológico no laboratório ou no setor produtivo, podemos considerar a biosseguridade onde o gerenciamento do programa envolve cinco componentes (Figura 7).

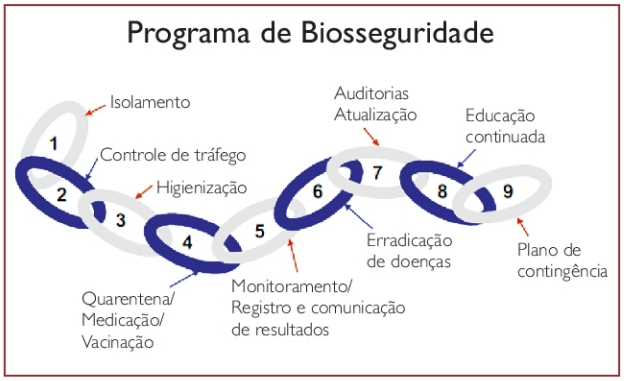


Figura 6. Cadeia de componentes básicos de um programa de biosseguridade. Fonte: adaptada de Sesti, 2005[36].

Regulamentação da biologia sintética: novos riscos, novos desafios

A apresentação da primeira célula sintética inaugura uma nova era da biologia. Com promissoras perspectivas, como a criação de microrganismos programados para funções específicas, como a de produzir vacinas e combustíveis, ela também gera apreensão em especialistas em bioética e biossegurança, dado seu potencial ilimitado.

A biologia sintética se propõe a construir formas de vida utilizando DNA construído em laboratório em síntese *de novo*, como também a redesenhar sistemas biológicos que não existem no mundo natural ou ainda readequar esses sistemas para realizar novas funções (Figura 8). Esta tecnologia está sendo aplicada principalmente na construção de enzimas e microrganismos artificiais destinados à produção de agrocombustíveis, a fim de acelerar o processo enzimático da biomassa obtida ao final do processo produtivo, e à indústria farmacêutica. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, geneticamente modificada para produção de farneseno cepa Y1979 da empresa Amyris, possui passos de tecnologia sintética, o que levanta a discussão sobre a pertinência da Lei de biossegurança brasileira cobrir ou não esses procedimentos. Para o entendimento da CTNBio, a Lei de biossegurança atual em vigor (2005) coloca sob controle da CTNBio todo e qualquer produto advindo

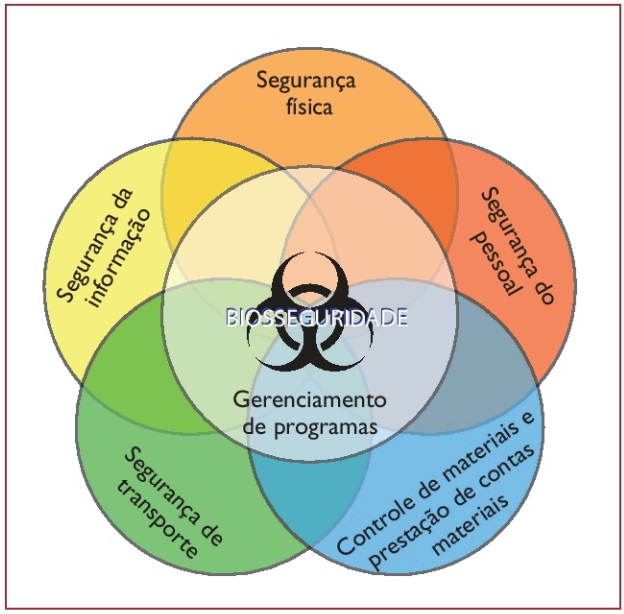


Figura 7. Gerenciamento de um programa de biosseguridade.



Figura 8. Criação de uma célula bacteriana criada por síntese química do genoma[43].

da tecnologia do DNA recombinante, portanto, mesmo que em alguma etapa tenha havido uma síntese química, foram utilizados procedimentos de engenharia genética para a construção do elemento final.

Em 2008, o projeto de investigação europeu SYNBIOSAFE foi o primeiro esforço para concentrar-se especificamente na segurança e nas questões éticas da biologia sintética. No entanto, estudos adicionais precisam ser realizados para facilitar o desenvolvimento socialmente aceitável desta tecnologia e suas múltiplas funções.

A comissão presidencial para o estudo de questões bioéticas deve apontar as apropriadas fronteiras éticas da nova técnica e traçar recomendações para minimizar os riscos. Nos Estados Unidos, a legislação atual não contempla a criação de vida artificial, nem a chamada biologia sintética. Os novos produtos são avaliados sob o aspecto da segurança da mesma forma que os demais, pelas agências reguladoras da saúde, meio ambiente e agricultura.

Embora alguns temas tenham sido debatidos por mais de 35 anos (desde a conferência de Asilomar de 1975), com o avanço da biologia sintética e de seus benefícios, questões de longo prazo deverão ser revistas à luz deste contexto contemporâneo.

É fundamental que a sociedade brasileira esteja cada vez mais informada e próxima dos conhecimentos envolvidos nos novos avanços científicos para poder julgar e selecionar o que mais é adequado ao desenvolvimento sócioeconômico do país e que tragam melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Lei n. 8.974 de 05 de janeiro de 1995. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, n. 05/95.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Institutes of Health (NIH). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4. ed.; 1999.
3. Teixeira P, Valle S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro; 1998.
4. Oda L, Ávila S. Biossegurança em laboratórios de saúde pública. Brasília. Ministério da Saúde, 1998.
5. Richmond J Y. Anthology of biosafety, Vol. 3: Applications of principles. ABSA, 2000.
6. Hirata MH. Manual de biossegurança. Barueri: Manole; 2001.
7. World Health Organization (WHO). Manual of laboratory biosafety. 3.ed. Geneva; 2004.
8. Meyer KF, Eddie B. Laboratory infections due to Brucella. J. Infectious Diseases. 1941;63:23-32.
9. Sulkin SE, Pike RM. Survey of laboratory-acquired Infections. Am J Public Health. 1951;41(7):769-81.
10. Pike RM. Laboratory associate infections, incidence, fatalities, causes and preventions. Ann Rev Microbiol. 1979; 33:5.
11. Centers for Disease Control (CDC). Classification of etiological agents on the basis of hazard. 4. ed. Atlanta, Centers for Disease Control (US); 1974.
12. National Institutes of Health (NIH). Recombinant DNA research: actions under the guidelines. Notice. 1994.
13. Cohen SN, et al. Nonchromosomal antibiotic resistance in bacteria: genetic transformation of *Escherichia coli* by R-factor DNA. Proc Nat Acad Sci. 1972;69:2110-4.
14. Berg P, Baltimore D, Brenner S, Roblin III SB, Singer MF. Summary Statement of the Asilomar Conference on Recombinant DNA Molecules. Proc Nat Acad Sci. 1975 72(6): 1981-4.
15. Gura T. New genes boost rice nutrients. Science. 1999;285:994-5.
16. United Nations Environment Programme (Unep). Convention on Biological Diversity - Report of the Fifth Meeting of the Open-Ended Ad Hoc Working Group on Biosafety. 17-28 August, Montreal, 1998.
17. Brasil. Política Nacional da Biodiversidade: roteiro de consulta para elaboração de uma proposta. Brasília: Ministério do Meio Ambiente (MMA); 2000.
18. Richmond JY, McKinney RW (eds). Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 4. ed., CDC/NIH, US Washington: Government Printing Office, 1999.
19. Aragão HB. Notícia histórica sobre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz (Instituto Manguinhos). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1950;48:1-50.
20. Ferreira LF. Novas Chronicas de Manguinhos. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1992. 129 p.
21. Deane LM.Gaspar Vianna, no centenário de seu nascimento. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1985;80(2):253-5.
22. Oda LM. Capacity building programme on biosafety: a guide to supervisors. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998, 270p.
23. Kinderlerer J. Biotechnology policy and regulation in the European Union update. J Biolaw Bus. 1997;1(1):95-9.
24. Oda LM. Biossegurança no Brasil segue padrões científicos internacionais. Biotecnologia,Ciência & Desenvolvimento. 2001;18:4-8.
25. Oda LM, et al. Biosafety in Brazil: past, present and prospects for the future. In: Richmond JY (ed.). Anthology of biosafety IV issues in public health. Mundelein: American Biological Safety Association; 2002. p. 135-48.
26. Oda LM, Soares BEC. Genetically modified foods: economic aspects and public acceptance in Brazil. Trends Biotechnol. 2000;18:188-90.

27. Guivant, J. Transgênicos e percepção publica da ciencia no Brasil. 2006. Ambiente e Sociedade. 2006;9(1): 81-103.
28. Souza L. Liberação da soja transgênica no Brasil, vantagem ou não?. 2012. Disponível em http://www.anbio.org.br/site. Acessado em 01/10/2011.
29. Hoban TJ. Public attitudes towards agricultural biotechnology. ESA Working Paper N. 04-09. FAO, Rome, May 2004. 16 pp.
30. IBOPE. Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística. Diferenças entre as duas pesquisas sobre transgênicos. Brasil: Ibope. 2003. Disponível em: http://www.ibope.com.br/pt-BR/Paginas/resultado.aspx?k=transgenicos%202003 Acessado em 01/10/2011.
31. UFSCar. Universidade Federal de São Carlos. Transgenia, na visão do público. Clickciencia. Edição 15. Matéria 8, 2009. Disponível em: www.clickciencia.ufscar.br/portal/edicao15/materia8_detalhe.php. Acessado em 01/10/2011.
32. American Biological Safety Association (ABSA). Anthology of biosafety IV: Issues in public health. Richmond JY (ed.). Mundelein, IL: Author; 2001. p. 290.
33. American Biological Safety Association (ABSA). (2003). Disponível em: www.absa.org (acesso: outubro 2011).
34. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). 2003. Disponível em: www.ufsc.br (acesso: outubro 2011).
35. Albino JJ. Aplicação das ações de 5S em aviários de corte e postura. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007.
36. Sesti LAC. Biosseguridade em avicultura: controle integrado de doenças em avicultura. VI Simpósio Goiano de Avicultura, Anais, 14-16 de Abril 2004, Goiânia, p.63-86.
37. Soncini RA. O GMP como ferramenta da biosseguridade na avicultura. In: Simpósio técnico de incubação, matrizes de corte e nutrição, 01, 2007, Balneário Camboriú. Anais. Balneário Camboriú, SC, 2007.
38. Harremoës P, Gee D, Macgarvin M, Stirling A, Keys J, Wynne B, Vaz SG (eds.) The precautionary principle in the 20th century: late lessons from early warnings. London: Earthscan; 268 pp.
39. Goldim JR, 2004. http://www.ufrgs.br/HCPA/gppg/precau.htm. Acessado em outubro de 2011.
40. Unep, 2004. http://www.unep.org/Documents/Default.asp?DocumentID=78&ArticleID=1163. Acessado em outubro de 2011.
41. Jaenisch FRF. Biossegurança em plantéis de matrizes de corte. 2004. Disponível em: <http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave0004.htm>. Acessado em outubro de 2011.
42. Sesti LAC (2004) Biosseguridade em granjas de reprodutores. In: Manejo de Matrizes de Corte (Marcos Macari, editor; 2004).
43. Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov VN, Chuang RY, Algire MA, et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science. 2010;329(5987):52-6.

capítulo 20

Biossegurança em laboratório de virologia

Dalva Assunção Portari Mancini

INTRODUÇÃO

O imprevisível e diversificado comportamento das doenças infecciosas emergentes e reemergentes tem acarretado a discussão das condições de biossegurança nas instituições de ensino, pesquisa, desenvolvimento tecnológico e de prestação de serviços. A despeito do avanço tecnológico, o profissional de saúde está frequentemente exposto a riscos biológicos e de produtos químicos, cujo enfrentamento está consubstanciado na adequação das instalações do ambiente de trabalho e na capacitação técnica profissional. O manejo e a avaliação de riscos são fundamentais para a definição de critérios e ações, visando minimizar situações que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

A biossegurança constitui uma área de conhecimento relativamente nova, regulada em vários países por um conjunto de leis, procedimentos ou diretrizes específicas. No Brasil, a legislação de biossegurança foi criada em 1995[1].

Normas tradicionais de segurança laboratorial enfatizam o uso de boas práticas de trabalho, de equipamentos de contenção adequados, dependências bem projetadas e controles administrativos que minimizem os riscos de uma infecção acidental ou ferimentos em trabalhadores de laboratório e que evitem a contaminação do meio ambiente.

A seguir estão apresentados os principais aspectos que devem ser priorizados visando à biossegurança no laboratório.

PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Buscando garantir sua proteção individual contra contaminações e acidentes, o profissional de saúde deve seguir algumas regras de conduta no laboratório. É imprescindível lavar as mãos ao entrar, antes de deixar o laboratório e após a manipulação do material. Deve-se manter os cabelos presos durante o período de trabalho. Para fins de pipetagem, devem ser utilizados dispositivos auxiliares, como peras de borracha e pipetadores automáticos. É necessário certificar-se da presença de algodão no bocal da pipeta e nunca pipetar usando a boca.

Se tiver algum ferimento nas mãos, o profissional deve protegê-lo para que não fique exposto. Caso isso não seja possível, deve ficar afastado da atividade até a cicatrização completa do ferimento. É preciso tomar o cuidado de não tocar nos olhos, boca ou nariz durante o trabalho.

É essencial o uso de roupas protetoras, avental ou jaleco abotoado, bem como luvas, durante a execução de atividades no interior do laboratório. Essas roupas devem ser usadas somente no interior do laboratório, sendo retiradas quando o profissional deixar o ambiente de trabalho. Não se deve manusear maçanetas, telefones, puxadores de armários ou outros objetos de uso comum quando usar luvas durante as atividades com agentes tóxicos, bem como não se deve usar lenços pessoais, aventais ou jalecos para limpar as mãos, objetos ou instrumentos de trabalho no laboratório. É fundamental trabalhar sempre de maneira ordenada, tranquila,

evitando movimentos desnecessários, e traçar sempre o plano de trabalho considerando o tempo necessário para a execução, análise e leitura.

PROTEÇÃO DO AMBIENTE DE TRABALHO

O acesso ao laboratório deve ser disponível apenas às pessoas que nele trabalham. Todo trabalho ou experimento deve ser registrado e deve seguir o protocolo específico. Todas as amostras devem ser registradas antes de se iniciar o trabalho e também não devem ser descartadas antes do término do resultado. Dentro do laboratório, as áreas de risco devem ter indicadores do grau de risco dos agentes manipulados e as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas sempre após o manuseio do material contaminante. Devem ser limpas pelo menos uma vez ao dia, mesmo que não seja manipulado qualquer material.

Deve-se ter controle diário da temperatura das estufas, geladeiras e *freezers* (estes devem ser chaveados) e realizar controle semanal de contaminação ambiental em fluxos e câmaras assépticas em trabalho com agentes patogênicos (vírus). O laboratório deve ser mantido limpo e as janelas devem estar fechadas ou ter telas de proteção para impedir a entrada de insetos.

MANIPULAÇÃO DE MATERIAL INFECCIOSO

Todas as atividades envolvendo material infeccioso devem ser realizadas em locais de proteção biológica ou mesmo associadas a outras atividades de contenção física. Todo o material deve ser descontaminado antes da lavagem ou do descarte. Deve-se colocar todo material usado, como pipetas e frascos, em recipientes adequados com solução desinfetante por no mínimo 24 horas. Recomenda-se o uso de solução de hipoclorito de sódio a 1% e sabão neutro. Se for necessário sair do laboratório com material contaminado, este deve ser colocado em recipiente à prova de vazamento e devidamente acondicionado. Não se deve usar cloro puro porque sua efetividade é maior em solução, além do fato de que essa substância em estado puro evapora mais rapidamente com o passar do tempo. Deve-se ter atenção redobrada com a manipulação de agulhas, seringas e instrumentos cortantes para prevenir autoinoculação ou qualquer tipo de acidente, e nunca se deve recolocar a capa da agulha. É imprescindível descartar todo o material em solução desinfetante apropriada. Todo e qualquer acidente deve ser relatado imediatamente de modo a permitir que medidas adequadas sejam tomadas. O laboratório deve ter um programa determinado para monitorar possíveis contaminações das pessoas envolvidas no trabalho.

PROCEDIMENTOS QUE PODEM OFERECER RISCOS DE CONTAMINAÇÃO

- Riscos de inoculação por produção de aerossóis.
- Riscos de ingestão.
- Riscos de inalação.
- Manuseio de material contaminado.
- Descarte de material contaminado.
- Material químico.

No Capítulo 5 “Manuseio de produtos químicos e descarte de seus resíduos”, encontram-se orientações detalhadas.

ACESSO CONTROLADO ÀS ÁREAS ONDE AGENTES BIOLÓGICOS ESTEJAM SENDO USADOS OU ARMAZENADOS

As áreas dos laboratórios e de tratamento de animais em experimento devem ser separadas das áreas públicas dos edifícios onde se encontram localizadas. As áreas do laboratório ou de cuidados dos animais devem estar sempre trancadas. Os cartões-chave ou dispositivos similares devem ser usados para permitir a entrada nas áreas do laboratório e nas de cuidado dos animais. Todas as entradas (incluindo as entradas para visitantes, trabalhadores de manutenção, trabalhadores para realização de reparos e outros que precisarem entrar ocasionalmente) devem ser registradas por um dispositivo semelhante a um cartão-chave (preferível) ou pela assinatura no livro de entrada. Somente os trabalhadores necessários para a realização de um trabalho devem receber permissão para entrar nas áreas e nas horas em que um trabalho em particular for realizado. O acesso para estudantes, cientistas, e outros interessados deve ser limitado ao horário em que os funcionários regulares estiverem presentes.

O acesso para limpeza, manutenção e consertos rotineiros deve ser limitado ao horário em que os funcionários estiverem presentes. *Freezers*, geladeiras, cabines e outros recipientes, em que estoques de agentes biológicos e materiais clínicos são guardados, devem ser trancados.

IDENTIFICAÇÃO NAS ÁREAS DO LABORATÓRIO

Os supervisores e diretores do local devem conhecer todos os trabalhadores. Dependendo dos agentes biológicos envolvidos e do tipo de trabalho a ser conduzido, deve-se fazer uma revisão da limpeza e da segurança antes que novos funcionários sejam designados para a área de trabalho. Todos os trabalhadores (incluindo estudantes, cientistas visitantes e outros trabalhadores temporários) devem usar crachás de identificação.

CONTROLE DE MATERIAIS QUE ESTÃO SENDO INTRODUZIDOS NO LABORATÓRIO

Todos os materiais devem ser verificados (visualmente ou por meio de raio X) antes de levados para dentro do laboratório. Os pacotes contendo amostras, substâncias de microrganismos ou isoladas ou toxinas devem ser abertos em uma cabine de segurança ou em outro dispositivo de contenção adequado.

É necessário conhecer quais os materiais que estão sendo removidos da área laboratorial. Os materiais que serão removidos para outros laboratórios devem ser embalados e rotulados de acordo com todos os regulamentos locais, federais e internacionais aplicáveis, e devem ser obtidas as licenças necessárias para a transferência antes que os materiais sejam acondicionados e rotulados[2].

TREINAMENTOS/INFORMAÇÕES

Funcionários e pessoas que têm acesso à área laboratorial estão sujeitos à exposição ocasional e acidental a microrganismos que pertencem a grupos de risco mais elevado. Portanto, faz-se necessária a adoção de planos e normas de segurança, visando a prevenção de acidentes e minimização de exposições.

Vigilância médica e de saúde

Os objetivos da vigilância médica e de saúde dos profissionais que trabalham em áreas de risco por exposição a agentes biológicos são prevenir o aparecimento de doenças profissionais em indivíduos saudáveis, por meio de exames regulares; programar, orientar e verificar a realização de imunizações ativas ou passivas para prevenção e minimização de risco de infecção, quando houver; providenciar o diagnóstico precoce dos casos de infecção ocupacional e avaliar a eficácia de equipamentos e de medidas de proteção e prevenção.

Envolvimento de profissionais com experiência em segurança e proteção

Recomenda-se o envolvimento de profissionais com experiência em segurança e proteção para que esses realizem a avaliação e o desenvolvimento das recomendações para um dado local ou laboratório. É preciso revisar as normas e os procedimentos de segurança regularmente. A administração deve revisar as normas para garantir que estejam adequadas para as condições atuais e consistentes com outras normas e procedimentos amplos do local. Os supervisores do laboratório devem assegurar que todos os trabalhadores e visitantes entendam os requisitos de segurança e sejam treinados e equipados para seguirem os procedimentos estabelecidos.

Cuidados gerais durante procedimentos em laboratórios

- Ter atenção máxima durante a realização dos procedimentos.
- É proibida a pipetagem com a boca.
- Nestas áreas é proibido comer, beber, fumar, guardar alimentos ou aplicar produtos cosméticos.
- É proibido levar quaisquer materiais à boca e língua.
- Manter as áreas de trabalho limpas, organizadas e livres de materiais que não são usados durante a atividade em execução.
- As superfícies de trabalho precisam ser desinfetadas após qualquer derramamento de material potencialmente perigoso, bem como ao final do expediente.
- É obrigatório lavar as mãos antes e após cada manuseio de material químico e biológico, bem como antes de sair do laboratório e áreas de produção.
- Todos os processos técnicos devem ser realizados de forma a reduzir ao mínimo o perigo de formação de aerossóis ou de gotículas. Quando houver técnicas que apresentam maiores riscos de formação destes, conduzir o procedimento em capela.
- Durante o trabalho no laboratório, a equipe deve usar aventais próprios, de uso restrito nessas áreas. As roupas contaminadas precisam ser desinfetadas com técnica adequada.
- A indumentária para proteção dentro do laboratório não pode ser guardada no mesmo armário que armazena objetos e vestuário pessoais.
- Os óculos de segurança e os protetores de face (visores), assim como outros dispositivos de proteção, devem ser usados sempre que forem indicados para a proteção de olhos e face contra os salpicos ou contra o impacto de objetos.
- Nas áreas de serviço onde há risco de exposição a agentes infectantes e químicos, somente será permitida a entrada de pessoas devidamente alertadas sobre os eventuais perigos e que preencham determinadas condições (vacinações, por exemplo).
- Durante o trabalho, as portas destas áreas permanecerão fechadas. O acesso de crianças e animais é proibido.
- Manter programa de controle de artrópodes e roedores.
- Luvas adequadas ao trabalho serão usadas em todas as atividades que possam resultar em contato direto com material biológico e químico. Depois de usadas, as luvas serão removidas em condições assépticas e descartadas em lixo para plásticos classe 1. Em seguida, lavar as mãos.
- Todo lixo classe 1 segue para autoclavação para posterior descarte.

- Todo e qualquer derramamento de material, acidente ou exposição (efetiva ou possível) a materiais infecciosos precisa ser levado imediatamente ao conhecimento do responsável pelo laboratório.
- As áreas de trabalho e armazenamento precisam ser adequadas para acesso a materiais de modo a evitar o congestionamento de mobiliário, equipamentos e objetos.
- É proibida a colocação de vasos de plantas ornamentais nestes ambientes.
- Todo e qualquer agente desinfetante e antisséptico utilizado precisa ser registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e conferido quanto à data de validade[3].

Higienização de superfícies e equipamentos

Na Tabela 1 estão exemplificados alguns equipamentos com os procedimentos sugeridos para higienização e sua frequência.

Recebimento e transporte de produtos infectantes

Para o transporte seguro de amostras e materiais infecciosos é proibida a remessa de substâncias de potencial infectante não identificáveis ou não marcadas como tais. Tal procedimento pode acarretar perigo para o serviço de transporte e para quem recebe a remessa.

O responsável pela remessa precisa ser treinado, de forma a garantir o manuseio dentro das normas de biossegurança, bem como acondicionar e identificar o material a fim de evitar eventuais acidentes.

Documentação e embalagem

A documentação que acompanha as remessas de amostras biológicas potencialmente infectantes deve conter informações de origem, destino, cuidados de manuseio, alerta de risco e procedimentos de emergência

Tabela 1. Procedimentos com frequência de higienização

Superfície/equipamento	Frequência	Material e procedimento
Chuveiros e lava-olhos	Semanal	Água e sabão para limpeza Água corrente por três minutos Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar em contato por 15 minutos
Aparelhos	Semanal/após exposição	Pano ou papel descartável para remoção da contaminação Água e sabão para limpeza Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar por 15 minutos
Autoclave	Semanal	Água e sabão – Limpeza mecânica
Banho de água	Semanal	Água e sabão para limpeza Álcool 70% – passar sobre a superfície, deixar por 15 minutos e secar
Centrífugas	Após utilização e após contaminação	Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar por 15 minutos
Estufa	Mensal ou após contaminação	Água e sabão para limpeza Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar por 15 minutos
Fluxo laminar	Diária antes e após uso	Água e sabão para limpeza mecânica Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar por 15 minutos
Filtro de ar-condicionado	Mensal	Água e sabão para limpeza Solução de hipoclorito 1% – deixar de molho por 30 minutos, enxaguar e secar
Freezer e geladeiras	Mensal	Água e sabão, degelar e limpar
Bancadas	Diária ou após contaminação	Pano ou papel para remoção da contaminação Álcool 70% – passar sobre a superfície e deixar por 15 minutos
Paredes	Trimestral	Água e sabão para limpeza
Pias	Diária	Água e sabão para limpeza
Pisos	Diária ou após contaminação	Pano ou papel para remoção da contaminação Água e sabão para limpeza Solução de hipoclorito 1% – passar sobre a superfície e deixar por 30 minutos
Lixeiras	Semanal	Água e sabão para limpeza Solução de hipoclorito 5% – deixar de molho por 30 minutos, enxaguar e secar

Fonte: CBB. Biotécnica[4].

em caso de acidente. A embalagem de transporte precisa ser impermeável, conter material absorvente envolvendo o recipiente em contato direto com a amostra, e o recipiente deve estar envolto em saco plástico.

Recebimento de material potencialmente infectante

O responsável pelo recebimento de tais materiais precisa ser treinado quanto a procedimentos de biossegurança[5].

INFECÇÕES ADQUIRIDAS EM LABORATÓRIO (IAL)

Poucos estudos sobre a prevalência das IAL foram publicados. Uma publicação de 1979[6] retrata a ocorrência de 4.079 casos de IAL entre 1.924 e 1.977, dos quais 168 foram fatais (Tabela 2).

Tabela 2. Agentes causais de infecções adquiridas em laboratório

Agente causal
Vírus (1179)
Bactérias (1074)
Rickettsias (598)
Fungos (354)
Clamídias (128)
Parasitas (116)

Fonte: Pike, 1979[6].

ORIGEM DOS CASOS DE IAL

Do total dos casos de IAL, 82% são de origem desconhecida. Os 18% restantes foram causados por:

- Aerossóis: 27%.
- Instrumentos perfurocortantes: 25%.
- Vidros quebrados ou superfícies cortantes: 16%.
- Ingestão do organismo infeccioso: 13%.
- Outras causas (mordidas de animais infectados, contato com material infectado, ingestão do material infectado em alimentos, cigarros): 18%.

Exposição ao risco:

- Trabalhadores dos laboratórios de pesquisa (em decorrência do manuseio de material contaminante em larga escala: 59%.
- Pessoal técnico nos laboratórios de análises clínicas: 13%.
- Pessoal da produção biológica: 3%.
- Pessoal de ensino: 3%.

NORMAS DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE FUNCIONÁRIOS QUE TÊM CONTATO COM AGENTES BIOLÓGICOS DA CLASSE DE RISCO 2

Nesse caso, fica sendo obrigatória a realização de exames de saúde clínicos e laboratoriais pré-admissionais, sendo recomendada a coleta de amostra sorológica para análise comparativa imediatamente após a exposição.

É necessário manter registro de casos de doenças e faltas. O funcionário e/ou seu médico têm a responsabilidade de informar a empresa sobre todas as faltas decorrentes por doenças.

Mulheres em idade fértil precisam ser informadas sobre os riscos de exposição profissional a microrganismos patógenos. Informar o responsável pelo laboratório imediatamente quando estiver gestante e/ou amamentando, para tomada de medidas preventivas contra possíveis infecções por exposição desnecessária (que coloquem em risco a saúde da mãe e da criança). Medidas preventivas a serem tomadas para a proteção do feto variam de acordo com os patógenos aos quais a gestante está exposta[4].

BIOSSEGURANÇA NO TRABALHO COM VÍRUS

Todo o trabalho com agentes patogênicos deve ser realizado seguindo as normas estipuladas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para os respectivos níveis de biossegurança, a depender da classe de risco do microrganismo.

Os vírus são transmitidos de um hospedeiro a outro por meio de: vias respiratórias (sarampo, SARS, *influenza* etc.); picadas de artrópodes (vírus da dengue, vírus da febre amarela etc.); água e alimentos (vírus das hepatites A e E, rotavírus etc.); sangue e derivados (vírus das hepatites B, C e D, HIV, HTLV, Ebola, Marburg etc.); excreções de roedores (hantavírus, arenavírus) e contato sexual (HPV, HSV, HTLV, HIV, HBV etc.)[7] (Tabela 3).

FATOR HUMANO: A MAIOR CAUSA DAS IAL

A maioria dos acidentes decorre da falta de treinamento do pessoal que manipula materiais infectantes. Estresse e pressa são outros fatores que levam a acidentes causadores das IAL. Os homens são sete vezes mais envolvidos em IAL que as mulheres. Os jovens com idades entre 19 e 24 anos são duas vezes mais afetados que indivíduos de 40 a 60 anos (levando-se em conta o tempo gasto na bancada nessas faixas etárias). Indivíduos saudáveis têm menor chance de IAL que os imunossuprimidos, e as pessoas com problemas crônicos de pele têm maior chance de sofrer IAL.

Quadro 1. Exemplos de risco biológico de vírus

Grupo 1: baixo risco individual e baixo risco para comunidade.
Grupo 2: risco individual moderado e risco limitado para comunidade.
Grupo 3: alto risco individual e baixo risco para comunidade.
Grupo 4: alto risco individual e alto risco para comunidade.

Vírus	Classe de Risco	Vírus	Classe de Risco
Adenovírus	2	Poxvírus	3
Herpes (HSV, HZV)	2	Estomatite vesicular	2
Astrovírus	2	Rotavírus	2
HIV	3	Febre amarela	3
Calicivírus	2	Rubéola	2
HTLV (T-linfotrópico humano)	3	Hantavírus	3
Caxumba	2	Sarampo	2
Influenza	2	Hepatite (vírus TT)	2
Citomegalovírus (CMV)	2	Sindbis	2
Papilomavírus (HPV)	2	Hepatite A (HAV)	2
Dengue	2	Vírus sincicial respiratório (RSV)	2
Parainfluenza	2	Hepatite B (HBV)	2
Encefalomiocardite	2	Vaccinia	2
Poliomavírus humano	2	Hepatite C (HCV)	2
Enterovírus	2	Varicela	2
Poliovírus	2	Hepatite D (HDV)	2

Fonte: Brasil, 2005[8].

BIOSSEGURANÇA NO TRABALHO COM VÍRUS

No laboratório e no manejo de pacientes e animais, são especialmente perigosos os vírus passíveis de propagação respiratória, sobretudo por meio da formação de aerossóis. Para se evitar infecções acidentais com vírus, todo profissional deve ter a percepção dos riscos envolvidos no manejo dos pacientes, dos espécimes clínicos e dos animais ou culturas infectadas.

Não existe o chamado "risco zero". Todos os esforços devem ser no sentido de se alcançar um mínimo de chances de acidentes e infecções do pessoal envolvido.

LINHAS DE CUIDADOS NA PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR VÍRUS

Nas enfermarias e laboratórios, devem ser observadas as seguintes linhas de cuidados na prevenção de infecções por vírus[9]:

- Definir um responsável pelas operações nas áreas de risco, o qual deve realizar previamente o treinamento de todo o pessoal (inclusive de apoio) e limpeza.
- O responsável deve ainda supervisionar o uso dos equipamentos de proteção individual (EPI) e dos equipamentos de proteção coletiva (EPC).
- As áreas de trabalho devem ser sinalizadas de maneira completa, incluindo o nível de risco biológico, químico e radioativo.
- O acesso de pessoas estranhas nas áreas de risco deve ser proibido.
- O consumo de alimentos, bebidas, fumo, assim como a utilização de cosméticos e o manejo de lentes de contato devem ser proibidos.
- Os EPI e as roupas de proteção devem ser utilizados somente nos locais de trabalho.
- Os EPI devem sempre estar em perfeito estado de utilização e devem ser descontaminados e substituídos sempre que necessário.
- Os EPC, entre os quais, as cabines de segurança biológica, sistemas de ventilação e autoclaves devem ser certificados regularmente segundo as recomendações do fabricante, garantindo o seu perfeito funcionamento.
- A vacinação prévia de todo o pessoal que trabalha nas áreas de risco deve ser implementada (*influenza*, febre amarela, tétano, hepatites A e B), sendo

coletadas amostras de sangue após a vacinação para comprovação sorológica da imunidade alcançada.
- Os protocolos respectivos devem ser guardados para referência no caso de infecção acidental e planejamento de revacinações quando recomendado.
- As normas operacionais de trabalho nas áreas de risco devem estar escritas, à disposição de todos os que trabalham na área.
- Precauções especiais devem ser tomadas no manejo de instrumentos cirúrgicos, seringas e agulhas (perfurocortantes).
- Os espécimes clínicos coletados de pacientes devem ser recebidos em laboratórios em local próprio, sendo as embalagens cuidadosamente abertas por profissional portando EPI adequados.
- No caso de quebra de frascos e vazamentos que contaminem extensamente as embalagens, pode ser recomendável a eliminação de todo o conteúdo, com a sua autoclavação antes do descarte final.
- Cuidados especiais na rotulagem, manejo e guarda dos espécimes são essenciais.
- Operações passíveis de produzirem a formação de aerossóis ou vazamentos devem ser particularmente monitoradas.
- Deve-se utilizar respiradores faciais do tipo N95, pois máscaras cirúrgicas não protegem contra aerossóis.
- Materiais plásticos não descartáveis e outros pequenos equipamentos cirúrgicos e vidraria podem ser esterilizados por imersão em hipoclorito a 1% ou formol a 1%.
- Os resíduos líquidos e sólidos hospitalares, passíveis de conter vírus e outros agentes infecciosos, devem ser descartados conforme determinado pela legislação.
- Os descartes sólidos e líquidos devem ser acondicionados em sacos plásticos brancos, para descarte diferenciado no meio ambiente.
- Todo material contaminado com vírus deve ser esterilizado antes do seu descarte final, sendo a autoclavação a operação mais segura.
- As carcaças de animais não devem ser previamente imersas em desinfetantes e sim autoclavadas e, em seguida, transferidas para embalagens à prova de vazamentos.
- As bancadas e outros locais de trabalho devem ser limpos com hipoclorito a 0,5%, sendo esssa solução preparada diariamente.
- No trabalho de concentração e purificação de suspensões virais de alto risco, como hepatite B, recomenda-se trabalhar em nível de biossegurança 3, quando o mesmo vírus é normalmente manipulado em nível 2.
- O mesmo raciocínio se aplica à manipulação dos hantavírus, classificados no risco 3; devem ser manipulados em nível 4 quando da realização de operações como inoculação em animais ou purificação, pelo risco de formação de aerossóis.
- O critério de elevar o nível de classificação de risco se aplica a outros vírus quando o material infeccioso se apresenta em volumes elevados ou se trata de infecções virais de alta concentração.
- Cabe ao profissional responsável pelo laboratório avaliar cada caso antes de se iniciar o manejo do material.

BIOSSEGURANÇA NO MANEJO DE VÍRUS TRANSMITIDOS PELO SANGUE

Vírus das hepatites B, C e D

- Vírus da hepatite B – família *Hepadnaviridae*.
- Vírus da hepatite C – família *Flaviviridae*.

A hepatite B é uma das mais frequentes infecções em pessoal que trabalha em laboratório. O vírus da hepatite B pode estar presente no sangue e hemoderivados, como sêmen, urina, fluido cerebroespinhal e saliva. O vírus da hepatite C é detectado principalmente no sangue, no soro e, com menor frequência, na saliva. O risco de infecção laboratorial ocorre principalmente pelo manuseio de materiais obtidos de pacientes humanos. Esses materiais são transmitidos principalmente pela inoculação parenteral, exposição de membranas mucosas a gotículas e fissuras na pele.

A transmissão do vírus da hepatite B pela via parenteral se dá de forma mais eficaz do que a do vírus da hepatite C, e ocorre principalmente por manipulação dos agentes infecciosos – laboratórios de nível de segurança 2 (NB2), trabalho com animais – laboratórios NB3.

Há vacinas capazes de prevenir a infecção pelo vírus da hepatite B em 80 a 95% dos casos. Não há vacinas contra a hepatite C.

Procedimentos em casos de acidentes

No caso de acidentes percutâneos (picada de agulha, laceração de pele, mordidas) ou permucosos (membrana ocular), em que há exposição ao sangue contaminado, seguir procedimentos clínicos correspondentes.

Biossegurança no manejo do HIV

O risco de infecção pelos retrovírus é baixo para os laboratoristas, quando comparado ao risco de infecção por outros agentes, como os vírus das hepatites B e C, por exemplo.

Aproximadamente 0,3% dos indivíduos que se feriram acidentalmente com agulhas ou se cortaram com

materiais infectados tornaram-se positivos para o HIV-1. O maior perigo é apresentado por inoculação parenteral acidental, seguido de exposição por contato com feridas. O vírus se mantém potencialmente infectante em sangue e hemoderivados secos por vários dias.

Cuidados especiais devem ser tomados na manipulação de materiais humanos ou de primatas não humanos (sangue, sêmen, saliva, leite, líquido cerebroespinhal etc.). Deve-se evitar o uso de materiais de vidro, bisturi, seringas e agulhas (essas últimas nunca devem ser recapeadas).

Trabalhos envolvendo a produção de grandes quantidades de vírus e trabalhos com animais devem ser desenvolvidos em laboratórios NB3.

Indivíduos que manipulam retrovírus em laboratório devem manter amostras de soro para teste sorológico a cada 6 meses.

Procedimentos em casos de acidentes

- Desinfetar a pele ou mucosa íntegra com excesso de álcool 70%. Deixar secar ao ar.
- Desinfetar a pele ou mucosa ferida com povidine.
- Verificar a presença de retrovírus no material causador do acidente. Caso esse material não esteja disponível ou na impossibilidade de se realizar os testes devidos, considerar o material como sendo infeccioso.
- Realizar a sorologia do indivíduo no dia O (data base) e após três semanas, três e seis meses, um ano, um ano e meio e dois anos.
- Iniciar o tratamento profilático com antirretrovirais, sob orientação médica.

Procedimentos para descontaminação e limpeza

- Os retrovírus são inativados com produtos clorados. 1% de cloro ativo é indicado para a descontaminação de superfícies inanimadas.
- O HIV é inativado somente após 10 minutos de contato com o álcool 70%.
- Os retrovírus são sensíveis a pH menor que 2 e maior que 12.
- O calor seco (170°C) inativa o vírus após 2 horas.
- O calor úmido sob pressão (121°C) e fervura (100°C) inativam o vírus após 20 minutos de contato.
- Soros podem ser inativados a 56°C durante 30 minutos.

BIOSSEGURANÇA E BIOTERRORISMO: A AMEAÇA FANTASMA

Os vírus *influenza* A

O vírus da *influenza* é um vírus envelopado de forma esférica ou filamentosa. Possui duas glicoproteínas presentes na superfície da partícula viral: a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA). Existem diferentes subtipos de vírus *influenza* A, classificados de acordo com o tipo de hemaglutinina e neuraminidase presentes na partícula viral. O genoma viral é constituído de oito

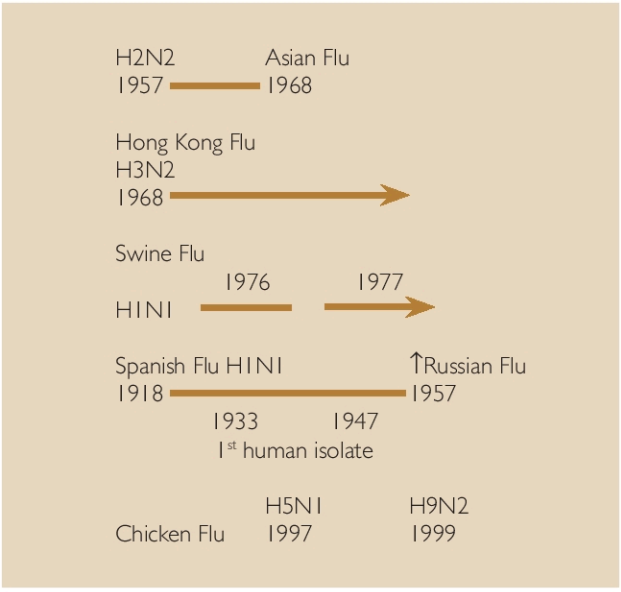


Figura 1. Pandemias de gripe no século XX.
Fonte: Hien et al., 2004[10].

Quadro 2. Transmissão de arbovírus sem vetores

Vírus	Via de transmissão	Comentários
West Nile	Percutânea	Dois microbiologistas se infectaram quando se espetaram com agulhas ou laceraram a mão com materiais infectados.
Dengue	Percutânea	Vários profissionais de saúde já se infectaram com agulhas contaminadas. Em pelo menos um caso houve contaminação quando o sangue de um paciente espirrou no rosto do enfermeiro.
Febre amarela	Incerta	Um técnico de laboratório se infectou após manusear o sangue de um paciente infectado. O acidente foi fatal. Pelo menos 30 cientistas e laboratoristas se infectaram após manusear camundongos, macacos e sangue ou tecidos de macacos infectados.

Fonte: Brasil, 2005[8].

segmentos de RNA fita simples e polaridade negativa (ARNv).

Pandemias de gripe no século XX

A gripe espanhola

Gripe espanhola: 50 a 100 milhões de mortes[11].
Primeira Guerra Mundial: 9 milhões de mortes.

A infecção de seres humanos pelos vírus *influenza* H5N1

As manifestações clínicas da infecção pelo vírus *influenza* H5N1 são assintomáticas, infecção respiratória branda, pneumonia grave e falência de múltiplos órgãos. Nos quadros graves, observa-se: linfopenia, trombocitopenia, elevação do nível de transaminases, insuficiência respiratória e renal, óbito cerca de 10 dias após o aparecimento dos sintomas e ausência de infecções secundárias bacterianas.

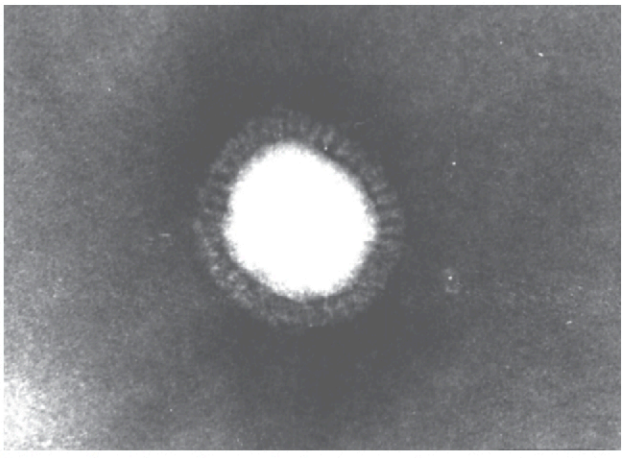


Figura 2. Microfotografia do vírus *influenza* de isolado humano. Microscopia eletrônica – aumento de 459.000 X, partícula viral medindo 100 nm X 70 nm.



Figura 3. *Influenza* isolada de hospedeiro desconhecido – heterotérmicos: serpente.
Aumento – 106.500, partículas de 40 nm a 100 barra – 100 nm.
Foto gentilmente cedida pelo pesquisador Sávio Sant'Ana.
Fonte: Mancini et al., 2007[12].

Patogênese da infecção de seres humanos pelos vírus influenza H5N1

Na histopatologia da infecção por vírus *influenza* H5N1, podem ser encontrados: edema, hemorragia, exudato fibrinoso e hemofagocitose. Podem ser encontrados ainda níveis elevados de: TNF-alfa, MIG, IP-10, IL-2, IL-6 e IFN[8].

O vírus da *influenza* (Figura 2) apresenta diversos hospedeiros naturais, destacando-se as aves, que apresentam diversas rotas de migração e são, portanto, um dos transmissores do vírus da *influenza*. Além delas, o vírus da *influenza* pode estar presente em suínos, equinos, serpentes, entre outros (Figura 3).

Entre os métodos de se avaliar o vírus da *influenza*, existem os mais tradicionais, como a prova de hemaglutinação e inibição da hemaglutinação (Figura 4) e, atualmente, pela técnica de RT/PCR (Figura 5). Além desses métodos, existem ainda aqueles considerados referência para diagnóstico durante uma epidemia de *influenza* (Tabelas 3 e 4).

A VARÍOLA, UM PESADELO DO PASSADO E UM ALERTA PARA O FUTURO

A varíola é causada por um membro da família *Poxviridae* e sua taxa de mortalidade pode chegar a 30%. A vacina contra a varíola foi desenvolvida por Edward Jenner (1749-1823).

Em 1967, a Organização Mundial da Saúde (OMS) iniciou a campanha de erradicação da varíola. Em 1980, a varíola foi declarada oficialmente erradicada do mundo; em 2007, os únicos estoques de vírus da varíola oficiais se encontravam nos Estados Unidos e na Rússia.

Vantagens da destruição do vírus da varíola[8]:

- Eliminação de um vírus mortal e bem adaptado a seres humanos.
- Eliminação de um agente potencialmente aplicável no combate ao bioterrorismo.
- A vacina foi eficaz em erradicar a doença. Hoje há dificuldade de se testar uma nova vacina em decorrência da ausência de um modelo animal.
- Possibilidade de se realizar pesquisas com vírus semelhantes ao vírus da varíola e com fragmentos de DNA do vírus da varíola.

Desvantagens da destruição do vírus da varíola[8]:

- Destruição deliberada de uma espécie biológica.
- Perda do conhecimento científico, potencialmente aplicável no combate às doenças infecciosas.
- Necessidade de uma nova e eficaz vacina.
- Necessidade de novas drogas antivirais.

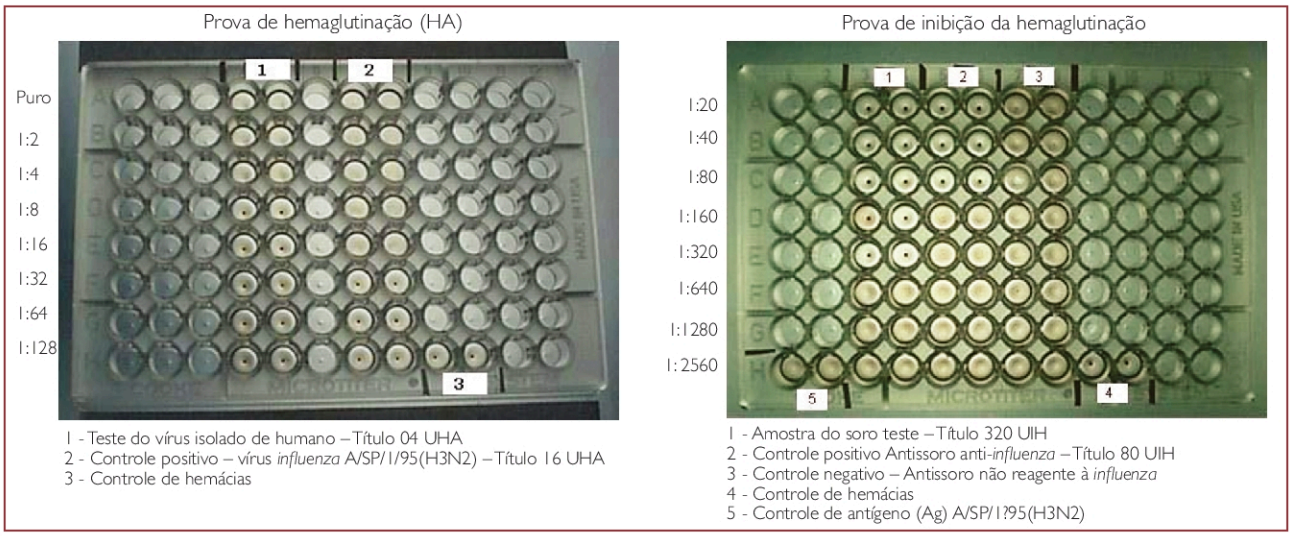


Figura 4. Testes de identificação do vírus *influenza*.
Fonte: Mancini et al., 2010[9].

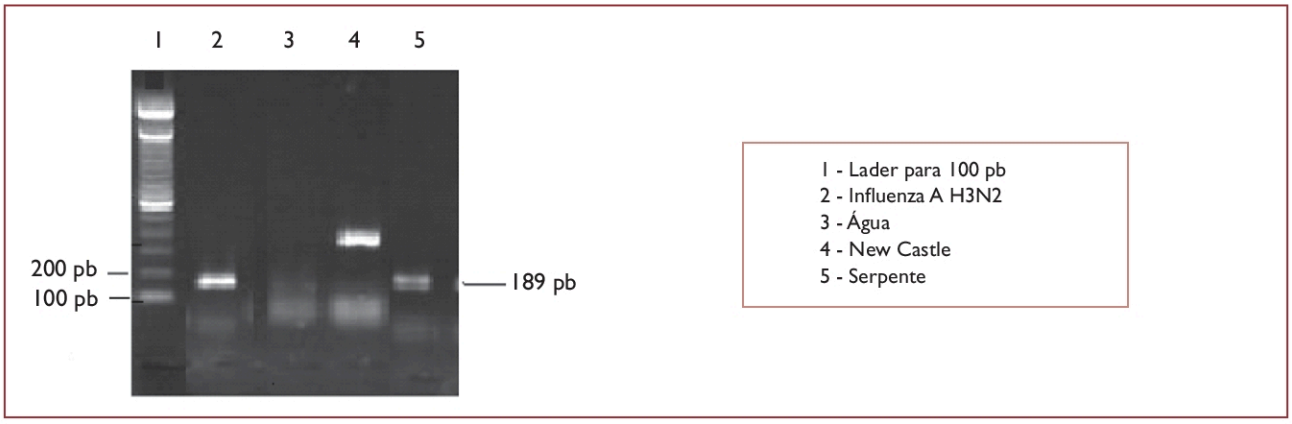


Figura 5. Fotografia de um gel de agarose após separação eletroforética do fragmento identificando o vírus *influenza*.
Fonte: Mancini et al., 2007[12].

Tabela 3. Referências para diagnóstico durante epidemia de *influenza*

Procedimento	Tipos de *influenza* detectados	Locais de coleta de amostras	Tempo para resultados	Resultados disponíveis rapidamente
Cultura celular	A e B	*Swab* nasofaringeal, *swab* nasal *Swab* nasal, lavado nasal e bronquial, aspirado nasal, catarro	3 a 10 dias	Não
Imunofluorescência	A e B	*Swab* nasofaringeal, lavado nasal e bronquial, aspirado nasal, catarro	2 a 4 horas	Não
DFA por anticorpo marcado RT-PCR	A e B	*Swab* nasofaringeal, *swab* nasal Lavado nasal e bronquial, aspirado nasal, catarro	2 a 4 horas	Não
Sorologia	A e B	Soros de quadros agudos e de convalescentes	Maior que 2 semanas	Não
Teste imunoenzimático	A e B	*Swab* nasofaringeal e nasal, lavado nasal e bronquial	2 horas	Não

Tabela 4. Testes para diagnóstico rápido

Procedimento	Tipos de *influenza* detectados	Locais de coleta de amostras	Tempo para resultados	Resultados disponíveis rapidamente
Directigen Flu A (Becton-Dickinson)	A	Lavado e aspirado nasofaringeal	Menos de 30 minutos	Sim
Directigen Flu A+B (Becton –Dickinson)	A e B	*Swab* aspirado e lavado nasofaringeal, *swab* nasal profundo e superficial, lavado broncoalveolar	Menos de 30 minutos	Sim
Directigen EZ Flu A+B (Becton-Dickinson)	A e B	*Swab*, aspirado e lavado nasofaringeal, *swab* nasal profundo e superficial, lavado broncoalveolar	Menos de 30 minutos	Sim
FLU OIA 4,7	A e B	*Swab* nasofaringeal e nasal, aspirado nasal, catarro	Menos de 30 minutos	Sim
FLU OIA A/B	A e B	*Swab* nasofaringeal e nasal, aspirado nasal, catarro	Menos de 30 minutos	Sim
XPECT Flu A+B (Remel)	A e B	Lavado nasal, *swab* nasoesofágico e nasal superficial	Menos de 30 minutos	Sim
NOW *influenza* A (Binax)	A	Lavado e aspirado nasal, *swab* nasoesofágico	Menos de 30 minutos	Sim
NOW *influenza* B (Binax)	B	Lavado e aspirado nasal, *swab* nasoesofágico	Menos de 30 minutos	Sim
NOW *influenza* AB (Binax)	A e B	Lavado e aspirado nasal, *swab* nasoesofágico	Menos de 30 minutos	Sim
OSOM® *influenza* A+B (Genzime)	A e B	*Swab* nasal	Menos de 30 minutos	Sim
Quick Vue *influenza* test (Quidel)	A e B	*Swab* nasofaringeal, lavado e aspirado nasal	Menos de 30 minutos	Sim
Quick Vue *Influenza* A+B Test (Quidel)	A e B	*Swab* nasoesofágico, lavado e aspirado nasal	Menos de 30 minutos	Sim
SAS *influenza* A test	A	Lavado e aspirado nasofaringeal	Menos de 30 minutos	Sim
SAS *influenza* B test	B	Lavado e aspirado nasofaringeal	Menos de 30 minutos	Sim
ZstafFlu (ZymeTx)	A e B	*Swab* nasal superficial	Menos de 30 minutos	Sim

Fonte: OSHA, 2009[13].

CONDUTAS EM DERRAMAMENTOS E ACIDENTES LABORATORIAIS COM MATERIAL POTENCIALMENTE INFECTANTE

Em caso de derramamento de material biológico, o local precisa ser imediatamente identificado com alerta de risco e isolado, e a área de derramamento deve ser coberta completamente com material absorvente e deve ser aplicada solução de hipoclorito concentrado. Após 30 minutos, deve ser iniciado o procedimento de limpeza. Deve ser utilizado material absorvente descartável, como toalhas de papel, compressas de gaze e panos de limpeza, para absorver o derramamento. Se o volume derramado for grande, pode ser usado material absorvente granulado para absorver o líquido.

Devem ser usadas luvas resistentes, avental e proteção facial, além de proteção para os calçados com material impermeável e descartável.

Se o derramamento contiver vidro quebrado ou outros objetos, esses devem ser descartados sem contato manual direto. Podem ser usadas folhas rígidas de cartão ou pás de lixo plásticas, dotadas de dispositivo para impulsionar os detritos em um recipiente para recolhê-los, ou podem ser usadas pinças. Estas devem ser descartadas juntamente com os objetos num recipiente apropriado para material com risco biológico e à prova de perfurações.

Se houver a possibilidade de formação de gotas, como no caso de quebra de recipiente dentro da centrífuga, o equipamento deve permanecer fechado durante

pelo menos meia hora, a fim de permitir que as gotas assentem, antes de se iniciar a descontaminação. Deve-se absorver a maior parte do líquido antes da limpeza e enxaguar o local do derramamento com água para remover produtos químicos nocivos ou odores. Deve-se então secar o local do derramamento para prevenir escorregões.

Todo material descartável utilizado na descontaminação precisa ser esterilizado antes de ser descartado.

PLANO DE EMERGÊNCIA

O controle do acesso às áreas do laboratório poderá fazer com que os procedimentos de emergência sejam dificultados. Esse fato deve ser considerado quando os planos de emergência forem desenvolvidos.

1. Uma avaliação da área laboratorial pelos funcionários do local, com profissionais de fora, se necessário, para a identificação dos aspectos de segurança e proteção, deve ser conduzida antes que um plano de emergência seja desenvolvido.
2. Os administradores, diretores, principais pesquisadores e trabalhadores do laboratório e os trabalhadores responsáveis pela segurança do local devem estar envolvidos no planejamento de emergência.
3. A polícia, o corpo de bombeiros ou outras pessoas envolvidas em situações de emergência devem ser informados quanto aos tipos de materiais biológicos em uso nas áreas laboratoriais e devem dar uma assistência ao planejamento dos procedimentos de emergência nas áreas laboratoriais.
4. Os planos devem incluir a provisão de uma notificação imediata aos diretores e trabalhadores do laboratório e pessoas encarregadas pela segurança ou outros indivíduos quando ocorrer uma emergência, de maneira que possam lidar com as questões de biossegurança, caso ocorram.
5. O planejamento de emergência laboratorial deve ser coordenado com planos de expansão. Fatores como ameaças de bombas, problemas climáticos (furacão e inundação), terremotos, falta de energia e outros desastres naturais (ou não naturais) devem ser considerados quando o plano de emergência estiver sendo desenvolvido. Deve-se possuir um protocolo para relato de incidentes.
6. Os diretores do laboratório, em cooperação com os encarregados pela segurança e proteção do local, devem ter normas e procedimentos no local para relatar e investigar os incidentes ou possíveis incidentes (por exemplo, visitantes sem documentos, desaparecimento de substâncias químicas, telefonemas incomuns ou ameaçadores)[3].

CONCLUSÕES

Considerando as informações da literatura, verifica-se a grande importância das medidas que a biossegurança estabelece para obtenção de resultados confiáveis e seguros, relacionados às atividades desenvolvidas em laboratórios de virologia.

Por meio da biossegurança, é lograda a prevenção de doenças virais transmitidas dentro ou fora do ambiente de trabalho. A garantia dessa proteção está ligada ao cumprimento das regras estabelecidas pelos níveis de segurança, que permitem a manipulação dos vírus com baixos índices de riscos pessoais e ambientais. Pelo atendimento às normas regulamentares de biossegurança, seria possível ainda evitar que substratos de vírus possam ser disseminados à população com fins que não aqueles relacionados ao controle das infecções virais.

Destaca-se também nesta revisão a importância de um plano de emergência que deve ser elaborado com previsão de futuros adventos de vírus, principalmente aqueles tipos respiratórios e de característica pandêmica, como o vírus da *influenza*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Lei n. 8.974, de 05.01.1995, revogada pela Lei n. 11.105, de 24.03.2005. Disponível em: http://www.ctnbio.gov.br.
2. Aguiar AM, Figueiredo, MHG. Procedimentos básicos de biossegurança para laboratórios de cultura de células e de microbiologia. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1996. p.2-8.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Legislação RDC n. 33, de 25.2.2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br.
4. Comissão de Biossegurança da Biotécnica (CBB). Procedimento operacional padrão – Biossegurança. Disponível em: http://www.biotecnica.ind.br.
5. Associação Nacional de Biossegurança (ANBio). Manual de segurança em manejo com vírus. 14/06/2008. Disponível em: http://www.anbio.org.br.
6. Pike PM. Laboratory-associated: incidence, fatalities, causes, and prevention. Annu Rev Microbiol. 1979;33:41-66.
7. Berche P. Emerging new risks of food-borne infections. Ann Biol Clin (Paris). 2001;59(5):585-91.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Procedimentos para a Manipulação de Microrganismos Patogênicos e/ou Recombinantes na Fiocruz. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2005. 220 p.
9. Mancini DAP, Mendonça RMZ, Pinto JR. Manual de procedimentos laboratoriais de virologia. São Paulo: Instituto Butantan; 2010. 105 p.
10. Hien TT, de Jong M, Farrar J. Avian influenza – a challenge to global health care structures. N Engl J Med. 2004;351(23):2363-5.
11. Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solórzano A, Swayne DE, et al. Characterization of the recons-

tructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. Science. 2005;310(5745):77-80.
12. Mancini DAP, Mendonça RMZ, Kawamoto AHN, Giorgetti M, Trindade HG, Fernandes W, Grego KF, Antoniazzi MM, Jared C, Pinto JR. Identification and characterization of influenza virus isolated from Brazilian snakes. In: Méndez-Vilas A (ed.). Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. v. 2. Badajoz, Espanha: Formatex; 2007. p. 868-4,
13. Occupational Safety and Health Administration (OSHA). Pandemic influenza preparedeness and response guidance for healthcare workers and healthcare employers. 2009. Disponível em: http:// www.osha.gov.

capítulo 21

Biossegurança em laboratórios de biologia molecular

Cristina Moreno Fajardo
Rebecca Kristina Kiyokawa

INTRODUÇÃO

A biossegurança deve fazer parte do cotidiano do laboratório de biologia molecular, exigindo medidas de controle dos riscos biológicos, químicos e físicos, visando sempre à proteção do operador e do meio ambiente e à diminuição dos riscos de contaminação de reagentes e amostras.

O profissional do laboratório de biologia molecular manipula amostras biológicas e reagentes de alta periculosidade, além de manusear aparelhos específicos, expondo-se aos riscos inerentes às atividades realizadas. O trabalho requer dedicação conjunta para a manutenção do espaço físico, bem como dos aparelhos, contando com a participação tanto dos profissionais do próprio laboratório quanto de profissionais especializados.

O conhecimento abrangente dos experimentos realizados, dos tipos de amostras biológicas manipuladas e dos reagentes utilizados é essencial para que se mantenha um nível desejado de segurança dentro do ambiente laboratorial. Para tanto, são necessários treinamentos contínuos de alunos, funcionários, docentes e outros profissionais direta ou indiretamente envolvidos com essas atividades, além da implantação de normas estabelecidas por órgãos fiscalizadores. O procedimento operacional padrão (POP) deve ser obrigatoriamente adotado como meio de padronizar os experimentos e limitar o número de erros cometidos pelos seus profissionais.

Considerando esses aspectos, o capítulo a seguir abordará temas relacionados à biossegurança em laboratórios de biologia molecular, como organização estrutural e operacional, medidas de contenção primárias e secundárias, assim como armazenamento de amostras biológicas, manutenção do laboratório e descartes.

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL E OPERACIONAL

Em um laboratório de biologia molecular, a organização estrutural é essencial para que se mantenha a segurança na execução dos procedimentos. Neste laboratório são realizadas atividades como: extração de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ribonucleico (RNA), amplificação por reação em cadeia pela polimerase (PCR) entre outras. Portanto, aspectos como condições ambientais, controle e prevenção de contaminação de áreas, equipamentos e reagentes são de suma importância nessa organização.

A implantação de salas subdivididas, diferenciadas por cores, são medidas de controle dos riscos biológicos e químicos e da prevenção da contaminação de amostras. No laboratório de biologia molecular, o ambiente deve ser particionado em salas de DNA, pré-PCR, PCR em tempo real, ala geral e equipamentos para PCR, RNA e pós-PCR. A distribuição do espaço físico do laboratório em salas em que cada uma é destinada a um determinado procedimento funciona como um meio de prevenir a contaminação cruzada por sequências de DNA amplificadas[1]. Cada sala deve ter os devidos equipamentos de proteção individual (EPI), como aventais, luvas e máscaras, e de proteção coletiva (EPC), como

cabine de segurança biológica e de segurança química (quando necessário). Além de produtos para limpeza e desinfecção de bancadas e materiais, tais como água destilada, álcool 70% e hipoclorito 1%. A escolha das luvas utilizadas no meio laboratorial deve ser feita com cuidado, pois são classificadas de acordo com a sua composição e o material a ser manipulado. Em um laboratório de biologia molecular, são utilizados os seguintes tipos de luvas: de látex 100% natural, lembrando a importância da utilização de luvas sem talco na sala de PCR, em tempo real e RNA a fim de evitar interferências nas reações; de borracha nitrílica e de borracha látex com neopreno, essa última oferecendo maior proteção contra químicos manipulados nesses laboratórios; com revestimento nitrílico, utilizadas para proteção contra calor, em temperaturas até 250°C; para a manipulação de nitrogênio líquido, devem ser utilizadas luvas de raspa de couro com ilhoses de metal e manga longa até o cotovelo. Os ilhoses de metal diminuem o risco de a luva aderir à mão, por troca de temperatura entre a mangueira e a luva, minimizando assim o risco de queimaduras. Mesmo com a utilização dessas luvas, o ideal para a manipulação do nitrogênio é que o manipulador acople uma alça à mangueira por onde passa o nitrogênio, evitando assim um contato direto entre os dois.

Quanto ao material de trabalho, é pertinente o armazenamento de materiais descartáveis, como ponteiras e tubos em cada sala. Além disso, cada sala terá o seu jogo de micropipetas que não são utilizadas fora desse ambiente, pois podem ser um possível carregador de aerossóis. O aerossol tem aproximadamente 20 mm de diâmetro ou 4 x 10^{-6}mL em volume, sendo que uma única gota pode carregar cerca de 24.000 cópias de DNA amplificado[1]. A instalação de armários para o armazenamento desses materiais auxiliará tanto no controle e na prevenção de contaminação quanto na organização do laboratório, garantindo a qualidade do trabalho realizado.

Outro aspecto importante sobre controle e prevenção de contaminação, é o uso de luz ultravioleta (UV), cabines de segurança biológicas classe II e de ar-condicionado. No laboratório de biologia molecular, cada sala deverá apresentar luz ultravioleta instalada no teto, pois ela representa um meio eficiente para a irradiação de DNA seco e para a descontaminação e eliminação da maioria dos micróbios das superfícies de trabalho[2]. O dano causado pela irradiação de luz UV no DNA se deve à formação de anéis de ciclobutano entre bases pirimidinas, timina e cisteína[3]. Cabe lembrar que deve ser mantida certa distância entre a luz UV e a superfície a ser descontaminada e que a capacidade de descontaminação de objetos tridimensionais, como micropipetas, é limitada. O laboratório também deve apresentar aparelhos de ar-condicionado, sem troca de ar, para garantir a estabilidade da temperatura do ambiente. A manutenção de temperaturas preestabelecidas no ambiente auxilia na preservação de reagentes armazenados em temperatura ambiente, oferece uma temperatura de trabalho agradável e ajuda a prevenir sobrecarga de geladeiras e congeladores.

Sala de DNA

O DNA, matéria-prima da análise do laboratório de biologia molecular, requer condições especiais para a manipulação, pois frequentemente pode estar exposto a contaminantes biológicos, químicos e ambientais. Consequentemente, é uma das salas mais importantes, pois é onde acontecerá a extração e a manipulação desse material, servindo assim como ponto de partida para toda a análise subsequente.

Nesse espaço, será realizada uma variedade de experimentos. Além da extração de DNA, também pode-se fazer diluições de amostras, manipulação de material biológico (como sangue), preparação de reagentes (como o marcador de peso molecular) e, ainda, adicionar o DNA ao tubo no qual ocorrerá a PCR.

Para garantir a segurança na execução dos procedimentos, deve ser feita uma limpeza inicial do interior dos fluxos laminares, assim como das micropipetas e das caixas de ponteiras a serem utilizadas. A limpeza deve ser feita com álcool 70% e exposição do material à luz UV por 20 minutos, lembrando sempre que essa ação deve ser repetida após o término do experimento.

Os aparelhos utilizados na sala de DNA não são os mais avançados do laboratório de biologia molecular, nem os mais custosos. No entanto, são importantíssimos no que se diz respeito à biossegurança desse ambiente. A sala de DNA deve conter cabine de segurança biológica classe II, geladeira para amostras biológicas, centrífuga para microtubos, homogeneizador de tubos



Figura 1. Sala de DNA – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor azul.

de sangue e vórtex, um jogo completo de pipetas para cada cabine de segurança biológica (caso tenha mais de uma), estoque de ponteiras, luvas descartáveis e um recipiente para perfurocortantes para descarte de ponteiras usadas (Figura 1). O fornecimento desses equipamentos e materiais limitará, nessa sala, a manipulação de possíveis materiais contaminados, evitando também a contaminação de outros ambientes. A manipulação de sangue também necessita de condições especiais de descarte, como uso de coletor perfurocortante, recipientes apropriados para resíduos biológicos, além da descontaminação prévia utilizando hipoclorito 1X do material que entrou em contato com o sangue.



Figura 2. Sala de pré-PCR – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor rosa.

Sala de pré-PCR

A sala de pré-PCR constitui um dos ambientes mais sensíveis a interferentes provenientes de outras áreas do laboratório de biologia molecular (Figura 2). Eles podem prejudicar a execução dos experimentos e causar erros difíceis de serem identificados, levando à necessidade de repetição dos procedimentos. Por causa da sensibilidade da PCR, quantidades minúsculas de DNA provenientes de fontes exógenas podem gerar resultados falso-positivos levando a diagnósticos incorretos[4]. O amplicon, produto da reação de amplificação, apresenta a maior e mais provável fonte de contaminação[5]. Portanto, devem ser adotadas medidas específicas de segurança de modo a diminuir os riscos de contaminação da sala de pré-PCR e, consequentemente, de todos os experimentos nela realizados. Uma medida indispensável é a preparação de uma sala utilizada especificamente para as preparações das reações em cadeia pela PCR.

Na sala de pré-PCR, são realizadas preparações dos reagentes para PCR, reconstituição e diluição de *primers* e diluição de desoxirribonucleotídios fosfatados (dNTP). Os reagentes utilizados para esses experimentos devem estar pré-aliquotados para manter a integridade dos mesmos. Além disso, métodos químicos que impedem a contaminação da PCR por amplicons podem ser utilizados. O mais comum é a modificação química do amplicon, em que deoxitimidina 5'trifosfato (dTTP) é substituída por dioxiuridina 5'trifosfato (dUTP), inviabilizando-o para amplificação. Em seguida, é adicionada a enzima uracil-N-glicosilase (comercialmente conhecida como AmpErase, UNG) durante a etapa de preparação da PCR, a qual degrada todo o DNA contendo U. A enzima não interfere na PCR e será degradada durante o primeiro ciclo de desnaturação. Como essa enzima é livre de nucleases, não degrada DNA e RNA. Ressalta-se também a importância do uso do controle negativo, pois o mesmo constitui um dos meios mais eficientes de assegurar a qualidade da PCR.

Dando continuidade à prevenção do risco de contaminação desses procedimentos, o acesso à sala com material não pertencente à mesma deve ser limitado. Nela, deve conter equipamentos, como cabine de segurança biológica classe II, centrífugas para microtubos e congelador (nunca *frost-free*) para armazenamento de reagentes, jogo de pipetas, luvas sem talco, avental com punho fechado, gorro e máscara. Cabe lembrar que é estritamente proibida a manipulação de DNA e produtos da PCR já amplificados dentro desse ambiente. Quanto à limpeza, utiliza-se o protocolo de álcool 70% seguido por exposição à luz UV por 20 minutos pré e pós-utilização.

Os resíduos provenientes dessa sala não requerem cuidados específicos quanto à descontaminação, com exceção para os perfurocortantes, que devem ser descartados em caixas rígidas.

Sala de PCR em tempo real

Esta sala deve ser dedicada somente à realização da PCR em tempo real, devendo ser adotadas medidas habituais de segurança a fim de evitar contaminação de amostras e visando sempre à proteção do profissional (Figura 3). Cabe lembrar que toda manipulação de reagentes e material utilizado nesses experimentos deve ser feita com uso de luvas sem talco, pois as partículas de talco podem interferir na emissão de fluorescência e, consequentemente, na sua leitura. Podem ser feitas alíquotas dos reagentes minimizando o risco de contaminação, pois elagera transtornos, como falsos resultados. Além disso, os reagentes utilizados na PCR em tempo real apresentam custo elevado e, muitas vezes, precisam ser importados, o que pode acarretar atrasos nos trabalhos. A pipetagem de reagentes e amostras deve ser feita com ponteiras livres de DNAses, RNAses e pirogênios, com filtro hidrofóbico que serve como barreira



Figura 3. Sala de PCR em tempo real – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor amarela.



Figura 4. Sala geral – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor vermelha.

de contenção, evitando a contaminação por aerossol. As micropipetas eletrônicas oferecem maior vantagem em relação às manuais, pois são mais precisas, controlam eletronicamente a aspiração e a liberação de líquidos e cansam menos o operador.

Assim como na PCR convencional, pode ser empregado o uso da enzima uracil-N-glicosilase (UNG), para que se evite a amplificação e a leitura de produtos previamente amplificados de DNA. Alguns *kits* comerciais já possuem essa enzima em seus reagentes, dando maior segurança na realização dos experimentos.

No que se refere às reações utilizando RNA, deve-se fazer uso de água tratada com dietil pirocarbonato (DEPC), pois é livre de nucleases que podem degradá-lo e também é considerado um potente desnaturante de proteínas. Porém, o DEPC é um possível cancerígeno e deve ser manipulado com cuidado[6].

Com exceção da placa da PCR em tempo real, que deve ser autoclavada antes de descartada, e de resíduos contendo DEPC, os resíduos provenientes dessa sala não requerem cuidados específicos quanto ao descarte; somente as ponteiras devem ser descartadas, como perfurocortantes, em caixas rígidas.

Sala geral

Essa sala deve funcionar como uma espécie de central para todo o laboratório, pois é onde se realiza a maior parte de sua organização e manutenção (Figura 4). Aqui são preparados grandes volumes de soluções, esterilização de materiais não contaminados, tratamento dos resíduos, como neutralização e filtração, armazenamento de reagentes e uma pequena quantidade de produtos químicos destinada à limpeza, lavagem e armazenamento das vidrarias e materiais descartáveis, entre outras. Para que se alcance esse objetivo, a sala deverá apresentar equipamentos específicos a esses fins, tais como cabine de segurança química, estufa, autoclave, pias de bacias fundas, centrífugas e centrífugas refrigeradas, purificadores de água (osmose reversa e deionizador), termoblocos para tubos de 0,2, 0,5 e 1,5 mL, além de banho de água, termocicladores, centrífugas a vácuo, vórtex, balanças, espectrofotômetros, potenciômetros (pH-metros), agitadores, entre outros.

No que se refere ao preparo das soluções, deve-se levar em consideração as características particulares de cada um dos produtos químicos utilizados, lembrando que podem apresentar riscos à saúde e ao meio ambiente. Além disso, na sala geral, não são realizados experimentos altamente sensíveis à contaminação. No entanto, isso não dispensa medidas habituais de segurança, como o uso de EPI, EPC e utilização de normas e diretrizes.

A água purificada por osmose reversa (ou destilada) e a deionizada exercem papel significante no cotidiano do laboratório de biologia molecular: sempre devem ser autoclavadas por um período mínimo de 30 minutos a 121°C com 1 atmosfera de pressão, tanto para preparo de reagentes e soluções quanto para a diluição de DNA. Para qualquer procedimento de obtenção de RNA, a água purificada deve ser tratada com DEPC. O fornecimento desse material deve ser contínuo; portanto, muitos laboratórios possuem equipamentos próprios para esse fim. A manutenção dos mesmos é feita rotineiramente e consiste na troca dos pré-filtros e filtros de água e a limpeza dos barriletes.

O ambiente deve possuir refrigeradores para reagentes utilizados nas análises. Estes podem oferecer alto risco ao laboratório quando são utilizados para armazenar material inflamável e para armazenamento de comida. No que se refere aos inflamáveis, por estarem em um ambiente fechado e sem ventilação, podem chegar muito rapidamente ao limite de saturação, correndo o risco

de explosões, ferindo assim gravemente ou até mesmo levando a óbito indivíduos próximos a eles[7].

A autoclavação é considerada padrão ouro para a esterilização de materiais, porém apresenta riscos aos profissionais envolvidos nessa atividade. Baseia-se no uso de vapor de água pressurizada para eliminar possíveis contaminantes provenientes de vidrarias, instrumentos, luvas, líquidos em garrafas, resíduos biológicos, curativos, entre outros[7]. Os riscos a que esses profissionais estão sujeitos são queimaduras, risco de explosão e vapores tóxicos. A manutenção do equipamento é de suma importância para a diminuição desses riscos e para que se tenha uma esterilização efetiva. Deve-se ter um POP para a utilização do equipamento, pois o tempo e a pressão a que os materiais são submetidos na autoclave são o que garantem a sua esterilização.

Outro aspecto essencial para manter o nível de segurança nesse ambiente é a manutenção, a organização e a limpeza das cabines de segurança química, pois nelas são trabalhados produtos químicos altamente tóxicos que liberam gases, vapores e apresentam periculosidade à sua ingestão, inalação e absorção pela pele. A cabine de segurança química nunca pode ser usada como depósito de soluções ou reagentes, deve-se oferecer uma área livre para a manipulação e o preparo de soluções. Além disso, deve estar certificada quanto à eficiência da exaustão, garantindo que os vapores e os gases sairão pelo duto. Deve ser um local organizado, no qual, quando preciso, deve conter apenas uma balança e um agitador para soluções. Rotineiramente, é necessário se fazer limpeza na base e nas paredes para a retirada de resíduos de reagentes e adsorvidos provenientes de vapores. É essencial a utilização de EPI nessa limpeza e os produtos usados devem ser considerados resíduos perigosos e, portanto, tratados antes do descarte.

Para garantir a qualidade dos trabalhos realizados, os equipamentos contidos nessa sala devem passar por manutenção preventiva e limpeza rotineira. Também é importante que se tenha um registro de usuário para manter um controle da utilização dos equipamentos.

Sala de RNA

O isolamento de RNA é um processo trabalhoso, demorado e de pouca eficiência, por se obter baixas quantidades de RNA. Além disso, os experimentos com RNA são muito sensíveis e sujeitos à contaminação. Portanto, nessa sala, a maior preocupação deve ser com a possível contaminação por RNAses exógenas, tanto do material utilizado quanto das amostras e dos experimentos realizados, pois podem degradar o RNA e, consequentemente, prejudicar os experimentos (Figura 5). Isso se deve ao fato de as RNAses serem enzimas robustas e potentes, enquanto a molécula de RNA é



Figura 5. Sala de RNA – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor verde.

instável e sensível a interferentes. Portanto, todas as medidas de segurança adotadas nesse ambiente são voltadas à contenção das RNAses.

Os reagentes para preparação de tampões e soluções devem ser estocados em armários próprios dentro dessa sala e, na preparação das soluções, deve-se utilizar espátulas descartáveis. As vidrarias para o armazenamento dessas soluções devem ser previamente tratadas com reagentes inativadores de RNAse ou por esterilização em forno a 300°C por quatro horas. Deve-se sempre fazer alíquotas pequenas de soluções e tampões que serão descartados após o uso.

A limpeza das bancadas, das pipetas e de todos os equipamentos deve ser feita sempre com inibidores de RNAse e as ponteiras utilizadas, com filtro e livres de nucleases. Os equipamentos devem ser para uso exclusivo na sala, sendo limitados para materiais externos.

O tratamento das soluções com DEPC, que é um detergente considerado essencial para todo o trabalho envolvendo RNA, seguido da autoclavação, é utilizado na preparação de soluções livres de RNAses, diminuindo assim o risco da sua degradação. Cabe lembrar que o DEPC tem meia-vida de, aproximadamente, 30 minutos em água, portanto, deve ser preparado em pequenas quantidades e somente na hora de se realizar o experimento. No entanto, esse composto é considerado altamente tóxico, podendo ser cancerígeno e, por isso, requer cuidados específicos no que se refere a preparação, manipulação e descarte. Em razão de suas volatilidade e toxicidade, deve ser preparado e manipulado dentro da cabine de segurança química, utilizando sempre EPI apropriados. Somente deve ser utilizado nos casos envolvendo RNA, devido à sua toxicidade. O DEPC é facilmente eliminado por autoclavação, pois hidrolisa o composto liberando CO_2 e etanol.

Na sala de RNA, lidamos com substâncias potencialmente tóxicas que podem apresentar efeitos nocivos à saúde, como guanidina, fenol, ficoll, isopropanol, entre

outros. Para isolamento de RNA, são utilizados alguns desnaturantes fortes, como guanidina, que rompem as células, solubilizam os seus componentes e denaturam RNAses endógenas simultaneamente[6]. Tiocianato de guanidina e guanidina hidroclorídrico são comumente utilizados e podem provocar lesões por inalação, ingestão ou absorção pela pele. A guanidina hidroclorídrico provoca irritação das mucosas, trato respiratório superior, pele e olhos. Para a sua manipulação, devem ser utilizados óculos de proteção ou máscara facial, luvas de borracha ou vinil e avental.

O fenol (C_6H_5OH), que foi muito utilizado para extração de RNA, é um ácido carbólico caracterizado por um anel aromático com uma ou mais hidroxilas ligadas a ele, que pode se apresentar tanto na forma sólida quanto em solução. É cristalino, porém, quando em contato com o ar ou exposto à luz, torna-se vermelho e tem odor característico. Ao ser inalado, ingerido ou absorvido pela pele, o fenol é bastante tóxico, podendo afetar de forma grave o sistema nervoso central, o fígado e os rins, levando a óbito. Além disso, sua combustão pode provocar a formação de gases irritantes, corrosivos e/ou tóxicos. Procedimentos de descarte incluem separação em recipientes identificados e incineração.

O ficoll é um polímero altamente ramificado, obtido pela copolimerização de sucrose e epicloridrina, podendo ser encontrado em soluções comerciais. Ele é aplicado para a separação de leucócitos presentes no sangue total, devendo ser utilizado juntamente com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), pois pode ocorrer a coagulação do sangue, dificultando o processamento.

O álcool isopropílico (isopropanol) é utilizado para a precipitação de ácidos nucleicos (DNA e RNA) e a estabilização da molécula nos procedimentos de extração. É um composto altamente inflamável, que deve ser armazenado de forma adequada, pois, em condições que haja evaporação e áreas fechadas, corre o risco de explosão, se houver ignição. Apresenta efeitos altamente tóxicos ao ser inalado, ingerido ou absorvido pela pele. Os principais riscos são os efeitos narcóticos (como sonolência e vertigem), risco de pneumonite química e edema pulmonar, irritação da pele e da conjuntiva do olho. Por apresentar alta toxicidade, deve ser manipulado com luvas de borracha de nitrila, avental e em cabine de segurança química. Não pode ser descartado diretamente no esgoto, devendo ser incinerado ou aterrado de acordo com a legislação local vigente. Embalagens não devem ser reutilizadas, e sim totalmente descontaminadas e enviadas para incineração.

Sala de pós-PCR

A sala de pós-PCR requer cuidados diferenciados, pois, além de ser o local de manipulação dos amplicons (produtos de amplificação da PCR), também se manipulam produtos químicos de elevada periculosidade, que levam a risco de alterações genéticas e têm ação carcinogênica (Figura 6). Há como exemplo o brometo de etídio, sais de acrilamida e bisacrilamida[8].

Essa sala deve ser dedicada à manipulação dos amplicons, limitando ao máximo a exposição dos outros ambientes do laboratório a esses contaminantes. Cabe lembrar que aventais, máscaras e luvas podem servir como veículos de contaminação.

No laboratório de biologia molecular, a eletroforese em gel de agarose e acrilamida é utilizada rotineiramente para separar moléculas de ácidos nucleicos[9]. Embora a agarose – um polímero derivado de algas – não apresente riscos à saúde humana, a acrilamida não polimerizada é uma neurotoxina potente que é absorvida imediatamente pela pele, podendo afetar o sistema nervoso central, periférico e o sistema reprodutor. Essa substância deve ser manipulada com cuidados especiais tanto na preparação quanto na pós-polimerização, pois, mesmo na sua forma polimerizada, pode conter quantidades pequenas de poliacrilamida não polimerizada. Dessa maneira, é necessário o uso de EPI e EPC, assim como de luvas impermeáveis apropriadas, aventais, máscara facial e cabine de segurança química para a sua manipulação.

Ao armazenar a acrilamida, deve-se tomar cuidados especiais, pois ela é incompatível com agentes oxidantes fortes, bases fortes, agentes redutores fortes, ácidos fortes, catalisadores de polimerização e aceleradores, cobre, latão, bronze, ferro e alumínio[10]. Os resíduos dessa substância devem ser incinerados.

O brometo de etídio ($C_{21}H_{20}BrN_3$) é uma substância derivada da fenantridina que se intercala entre os pares de bases de DNA, formando complexos que, ao serem expostos à luz UV nos comprimentos de onda 302 nm e 366 nm, emitem fluorescência, possibilitando, assim, a sua visualização[11,6]. É uma ferramenta bastante útil na área de biologia molecular, porém apresenta propriedades altamente mutagênicas e carcinogênicas, expondo



Figura 6. Sala de pós-PCR – identificação da sala, dos EPI e dos equipamentos com a cor azul clara.

os profissionais dessa área a riscos significativos. Estudos sugerem que o brometo de etídio possui potencial mutagênico, aproximadamente, cinco vezes maior que o benzo-a-pireno e dez vezes maior que o N-metil-N'--nitro-N-guanidina (NTG) – substâncias mutagênicas utilizadas na área de genética[12]. Por esse motivo, tornou-se indispensável o uso de EPI e EPC apropriados para a manipulação dessa substância. Além disso, foram desenvolvidas técnicas de descontaminação e descarte específicas para este composto. Uma das técnicas mais utilizadas na pesquisa é o tratamento com hipoclorito de sódio, que consiste na conversão do brometo de etídio em 2-carboxibenzofenona[13]. No entanto, este método apresenta desvantagens importantes, pois, após a inativação, 20% do produto ainda apresenta mutagenicidade[12]. Uma alternativa simples, porém de alto custo, é a incineração, na qual soluções contendo brometo de etídio são destruídas em temperaturas acima de 1.600°C. Podem ser empregados outros métodos químicos para a destruição do brometo, como a inativação por permanganato de potássio, ácido clorídrico, ácido hipofosforoso e nitrato de sódio, ou pela absorção por carvão ativado ou resinas específicas. Cabe lembrar que a toxicidade de um composto depende das concentrações utilizadas e do tempo de exposição ao mesmo. Soluções com concentrações de brometo de etídio para géis de agarose e acrilamida até 0,1 mcg/mL não são consideradas perigosas quanto aos efeitos mutagênicos[14].

Outra substância bastante utilizada nesse ambiente é o nitrato de prata ($AgNO_3$), utilizado para a coloração de géis de poliacrilamida. Por ser um metal pesado, deve ser manipulado com cuidado, pois apresenta toxicidade aguda, sendo lesivo por inalação, ingestão ou por absorção pela pele, provocando queimaduras[6]. Também pode provocar descoloração da córnea. O seu descarte não deve ser feito na rede de esgoto, pois pode provocar danos extensos a organismos aquáticos por ser altamente bioacumulável. Sendo assim, a prata deve passar por uma etapa prévia de redução ao seu estado metálico, adicionando um volume de solução de formaldeído a 0,28% e NaOH a 3% para cada volume de solução de $AgNO_3$ a 0,17%[15]. Depois de precipitado, deve-se filtrar e incinerar o resíduo sólido.

O *SYBR green* é um composto químico, não simétrico, utilizado para detecção de DNA em géis de agarose e acrilamida, cuja afinidade para DNA dupla fita é, aproximadamente, cem vezes maior que a do brometo de etídio[16]. Características próprias do *SYBR green*, como propriedades fotofísicas favoráveis, estabilidade de temperatura, seletividade para DNA dupla fita e alta sensibilidade, faz com que esse composto tenha sido aplicado em uma grande variedade de técnicas moleculares[17]. Graças a sua alta sensibilidade, tornou-se possível a detecção de quantidades bastante pequenas de DNA (20 pg) nos géis de agarose[6]. Entre os métodos que podem utilizar o *SYBR green*, encontramos detecção de ácidos nucleicos, determinação de atividade de DNAse ou telomerase, citometria de fluxo e PCR em tempo real. O complexo formado com DNA possui absorção máxima em 485 nm. Além da toxicidade apresentada pelo *SYBR green*, foi sugerido que o potencial mutagênico da luz UV é aumentado de forma significativa por ele. O *SYBR green* representa um desafio significativo, já que a utilização dessa técnica se baseia na sua ligação com DNA e na consequente exposição à luz UV. Cabe a todo profissional, então, lembrar que devem ser adotadas todas as medidas de segurança ao se manipular essa substância.

Além da exposição dos profissionais aos agentes químicos nesse ambiente, eles também estão sujeitos a riscos físicos como, por exemplo, choque elétrico, que pode ser definido como o efeito patofisiológico que resulta da passagem de uma corrente elétrica, a denominada corrente de choque, através do corpo de uma pessoa ou animal[18]. Na sala de pós-PCR, esse risco é proveniente do uso de fontes de eletroforese, equipamentos de fotodocumentação de géis de agarose e acrilamida, aparelho de micro-ondas, agitadores, entre outros. Assim como o choque elétrico, o profissional também está sujeito à radiação por conta da exposição à luz UV, que pode acarretar problemas de queimaduras e oftalmológicos. Cabe lembrar que a maior parte da radiação UV significativa se encontra na região situada entre 200 nm e 400 nm, e que os efeitos biológicos adversos ocorrem em todas as faixas dessa região. Para tanto, ao ser exposto à radiação, o profissional deve utilizar protetores faciais ou óculos específicos que protejam a região do rosto e dos olhos, além de outros tipos de EPI que protegem todas as partes do corpo expostas à radiação.

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS E REAGENTES NO LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR

O armazenamento correto das amostras e dos reagentes utilizados no laboratório de biologia molecular é essencial para que seja mantida a integridade dos experimentos e para que se possa garantir a segurança dos profissionais que nele trabalham. Para tanto, cabe lembrar que toda amostra deve ser tratada como potencialmente infecciosa e que muitos dos reagentes pertencentes ao cotidiano do laboratório oferecem um leque de agressões à saúde humana[5,19]. Devem ser sempre levadas em consideração as recomendações específicas de armazenamento de cada tipo de amostra. Em geral, essas recomendações dizem respeito a temperaturas e tempo de armazenamento, além do tipo de tubos e tampões em que essas amostras devem ser mantidas. A identificação

correta da amostra é de suma importância, pois protege a privacidade do paciente, além de auxiliar na organização do laboratório. Cada laboratório deve estabelecer normas em relação à identificação das amostras biológicas. No entanto, essa identificação deve conter, pelo menos, os seguintes itens: um número de identificação, data da coleta, hora da coleta e tipo de amostra (sangue, tecido, fezes, urina, entre outros)[20].

Refrigeradores de 4 a 8°C, congeladores a -20° e -70°C e tambores de nitrogênio líquido devem estar disponíveis para uso do pessoal do laboratório de biologia molecular. Os refrigeradores e congeladores a -20°C não devem ser do tipo *frost-free*, pois estes apresentam variações de temperaturas que podem provocar degradação dos ácidos nucleicos[20].

Em relação ao armazenamento dos reagentes, é de extrema importância que se adote medidas de organização, pois a desorganização é totalmente incompatível com as atividades exercidas no laboratório[10]. Uma medida que exemplifica essa organização é a atenção devida à informação dada sobre cada reagente pelo próprio fabricante. Essa informação deve compor: informação sobre identificação, prazo de validade e instruções específicas sobre armazenamento. No que se refere às alíquotas de reagentes, estas devem ser retiradas da embalagem original, transferidas para recipientes adequados, devidamente rotulados e armazenados por um determinado tempo[21]. Substâncias que apresentam alto nível de periculosidade não devem ser armazenadas em locais altos em relação ao piso, evitando assim acidentes de trabalho. Ao estocar os produtos químicos, deve ser respeitada a composição de cada um, pois a mesma pode motivar problemas de incompatibilidade, combustão ou explosão, colocando em risco o profissional, o espaço físico e o meio ambiente. Além disso, não se deve estocar reagentes em grandes quantidades no laboratório, pois o lugar não dispõe de estrutura física para esse tipo de estocagem.

Na Tabela 1, são apresentados alguns tipos de amostras biológicas mais frequentemente utilizadas nos métodos moleculares e as condições em que devem ser armazenadas.

Tabela 1. Armazenamento de amostras biológicas no laboratório de biologia molecular

Tipo de amostra	Armazenamento
DNA	■ Armazenado em tampão TE (Tris-EDTA). Temperatura ambiente por até 26 semanas. ■ Temperaturas de 2 a 8°C, até um ano (quando não há DNAses contaminantes). ■ Temperaturas de -20°C, até sete anos. (Amostras com baixa pureza devem ser sempre armazenadas nessas condições.) ■ Temperaturas de -70°C, pelo menos, sete anos.
RNA	■ Armazenado como amostra precipitada em etanol, utilizando tubos previamente tratados com DEPC. ■ Temperaturas abaixo de -70°C, pois RNAses continuam degradando RNA em temperaturas de -20°C.
Sangue total	Sangue destinado à extração de DNA pode ser armazenado a 2 a 8°C por 72 horas antes do procedimento.
Soro	Armazenado a -20°C
Plasma	Estável por até cinco dias a 2 a 8°C ou por mais tempo, se armazenado a -20°C ou -70°C.
Tecido humano	■ Amostras destinadas à extração de DNA devem ser armazenadas por até 24 horas a 2 a 8°C, durante, pelo menos, duas semanas a -20°C e um ano a -70°C ou temperaturas mais baixas. ■ Pode ser feito um congelamento rápido da amostra, tanto no local da coleta quanto no laboratório, em nitrogênio líquido. ■ Amostras destinadas à extração de RNA devem passar por congelamento rápido em nitrogênio líquido.
Células periféricas mononucleares	Criopreservação: temperaturas muito baixas como a do nitrogênio líquido (-196°C).
Urina	■ Deve ser evitado armazenamento em temperaturas ambiente, pois pode ocorrer degradação dos ácidos nucleicos por pH baixo e concentrações elevadas de ureia. ■ Após processamento, a amostra deve ser armazenada a 2 a 8°C.
Fezes	Temperatura de 2 a 8°C.
Sêmen	Temperaturas de 2 a 8°C até que seja feita a extração de DNA.
Escarro	■ Amostras não testadas imediatamente devem ser refrigeradas a 2 a 8°C. ■ Armazenamento por pelo menos um ano em temperaturas de -70°C ou mais baixas.

Fonte: Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS (2005)[20].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orrego C. Organizing a laboratory for PCR work. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. PCR protocols: a guide to methods and application. San Diego: Academic Press, 1990.
2. Vesley D, Lauer JL. Decontamination, sterilization, disinfection and antisepsis. In: Fleming DO. Laboratory Safety: ASM Press, 1995.
3. Cone RW, Fairfax MR. Ultraviolet irraditation of surfaces to reduce PCR contamination. Genome Res. 1993;3:S15-S17.
4. Abravaya K, Hu HY, Khahil O. Strategies to avoid amplicon contamination. In: Lee MO. Nucleic acid amplification techniques. Appliation to diagnosis. Boston: Eaton Publishing, 1997.
5. Bruns DE, Ashwood ER, Burtis CA. Fundamentals of molecular diagnostics. St. Louis: Saunders Elsevier; 2007.
6. Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbour Laboratory Press, 2001
7. Furr AK. CRC Handbook of Laboratory Safety. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 1995.
8. Hirata MH, Mancini JF. Manual de biossegurança. Barueri: Manole; 2002.
9. Reiniger LRS, Anthonisen D, Sepel LMN. Reciclagem de agarose em laboratórios de biologia molecular. Ciência Rural, Santa Maria. 2004;34(5):1603-5.
10. Carvalho PRD. Boas práticas químicas em biosseguranca. Rio de Janeiro: Interciência, 1999.
11. Oliveira MWD, Hilsdorf AWS, Souza de Silva AF, Oliveira AF. Estudo da adsorção de brometo de etídio em resina XAD-7. Química nova. 2009;32(5).
12. Quillardet P, Hofnung M. Ethidium bromide and safety-readers suggest alternative solutions. Trends Genet. 1988;4(4):89-90.
13. Armour MA. Hazardous laboratory chemicals disposal guide. 2. ed. Boca Raton: Lewis, 1995.
14. Carniello RS, Silva RFD, Fiorini A. Descontaminação de resíduos de brometo de etídio gerados em procedimentos de biologia molecular. IV Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica do Cesumar, 2008.
15. Zancanaro OJ. Descartes de produtos químicos. In: Hirata MH. Manual de Biossegurança. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 2000.
16. Ohta T, Tokishita, Yamagata H. Ethidium bromide and SYBR green I enhance the genotoxicity of UV-irradiation and chemical mutagens. In: E. coli. Mutation research. 2001;492:91-7.
17. Zipper H, Brunner H, Bernhagen J, Vitzthum F. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determinationand methodological implications. Nucleic Acids Research. 2004;32(12).
18. Torreira RP. Manual de segurança industrial. São Paulo: Ex Libris, 1999.
19. Costa MAFD. Manual para profissionais das áreas médicas e biomédicas.In: Biosseguranca: segurança química básica em biotecnologia e ambientes hospitalares. São Paulo: Santos, 1996.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Collection, transport, preparation and storage of specimen for molecular methods. CLSI/NCCLS aproved guideline MM13-A. 1. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005.
21. INMETRO-CTLE 06. Princípio das boas práticas de laboratório. Rio de Janeiro: INMETRO, 1995.

capítulo 22

Biossegurança em nanotecnologia

Vladi Olga Consiglieri

INTRODUÇÃO

As nanopartículas podem ser definidas, de modo geral, como material ultrafino, com tamanho de 1 a 100 nm, entretanto, podem ser encontradas partículas maiores, de até cerca de 200 nm, sob a mesma definição, bem como diversos tipos de sistemas envolvendo não apenas partículas finamente reduzidas de dado material, dentre eles os nanotubos, as nanoesferas e as nanocápsulas. A nanotecnologia, por sua vez, inclui a integração dessas estruturas nanoestruturadas como componentes de materiais ou de sistemas preexistentes com o objetivo de obter materiais novos e mais eficientes ou com novas funcionalidades[1].

Nos últimos vinte anos, as nanopartículas têm sido crescente objeto de estudo pelos pesquisadores em diversos campos tradicionais de conhecimento, destacando-se física, química, ciência dos materiais, ciências da vida e engenharia elétrica. Por conseguinte, a nanotecnolgia encontra aplicação em diversos setores industriais, como têxtil, aeroespacial, automotivo, energético, ambiental, farmacêutico e cosmético, nas tecnologias da informação e da comunicação, entre outros[1,2].

As nanopartículas de óxido de titânio, por exemplo, por serem ótimas absorventes de energia UV, são utilizadas como componentes em revestimentos e cosméticos; as de óxido de zinco são amplamente usadas como diluentes em polímeros e absorventes de luz UV e, quando incorporadas em revestimentos (tintas), tecidos ou plásticos, têm efeito antibacteriano e antifúngico. Nanopartículas de cádmio têm aplicação como semicondutoras em estruturas metalocristalinas[3]. Outros exemplos incluem, ainda, nanopartículas de materiais magnéticos para motores elétricos e geradores, nanomateriais altamente transmissores de energia elétrica como componentes para baterias e monitores, partículas para revestimento de fibras de tecidos a prova de manchas, tintas autolimpantes, entre tantos outros[4].

Os investimentos em pesquisa e desenvolvimento para a produção de materiais nanoparticulados nas diversas aplicações alcançaram a marca de mais de US$ 18 bilhões em 2008, e o valor agregado de produtos que empregam essa tecnologia está estimado em US$ 3 trilhões para 2015. Entretanto, as agências regulatórias e a comunidade científica ainda têm muitos questionamentos sobre os riscos desses materiais à saúde e ao meio ambiente[5,6].

Em 2004, Donaldson et al.[7] sugeriram a criação da disciplina de Nanotoxicologia para enfrentar os novos potenciais riscos derivados do uso disseminado de nanopartículas e para apoiar o crescimento de uma indústria de nanotecnologia segura e sustentável[6].

Neste capítulo, são abordados os principais desafios da toxicologia direcionada aos sistemas nanoestruturados em geral, considerando, sobretudo, a escala de tamanho dessas partículas, bem como o quanto se conseguiu avançar até o momento no mapeamento dos efeitos deletérios à saúde e ao ambiente, em virtude do reduzido tamanho desses materiais.

DEFINIÇÕES

Segundo a Academia Europeia Graue Reihe (Europaische Akademie Graue Reihe), a nanotecnologia é o emprego de sistemas funcionais baseados no uso de sub-

unidades com propriedades específicas que dependem de seu reduzido tamanho individual ou do tamanho de seu sistema. A nanociência é definida pela Academia Real de Engenharia (Raeuk) como o estudo dos fenômenos e a manipulação de materiais nas escalas atômica, molecular e macromolecular, nas quais as propriedades diferem significativamente daquelas em maior escala, enquanto a nanotecnologia representa o planejamento, a caracterização, a produção e a aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas, controlando a forma e o tamanho em escala nanométrica[4].

O mercado nanotecnológico pode ser dividido em três segmentos principais: materiais, ferramentas e dispositivos. Como material, entende-se o componente que tem ao menos uma dimensão entre 1 a 100 nm e inclui nanopartículas, nanofibras e nanotubos, materiais compostos e superfícies nanoestruturadas. Na categoria das nanoferramentas podem ser incluídas ferramentas e técnicas para a síntese de nanomateriais, para a manipulação de átomos e para medir e caracterizar materiais e dispositivos em nanoescala. Os dispositivos envolvem as áreas de microeletrônica e biotecnologia – desta última depende a produção de aparelhos que simulam sistemas biológicos como motores celulares[4].

HISTÓRICO

O primeiro conceito do termo nanotecnologia foi apresentado em 1974, por Taniguchi, nos trabalhos da Conferência Internacional em Engenharia de Produção, realizado pela Sociedade Japonesa de Engenharia de Precisão, em Tóquio. Entretanto, essa área veio a se desenvolver de fato com os avanços nas ciências dos materiais e o desenvolvimento de imagens em alta resolução e das técnicas analíticas, como difração de raios X e microscopia de transmissão eletrônica. Por meio dessas técnicas foi possível começar a elucidar a estrutura dos materiais em escala atômica e, principalmente, como essas estruturas influenciam a funcionalidade dos materiais. Com os avanços tecnológicos, muito interesse foi direcionado para a manipulação dessas estruturas e, assim, na área das ciências dos materiais foram iniciadas investigações sobre pequenas alterações estruturais, em nível atômico ou molecular, que poderiam alterar o desempenho e as propriedades das partículas em macroescala[6].

O auge do entusiasmo com os materiais nanoestruturados se deu com a síntese dos nanotubos de carbono* e a demonstração da manipulação de um só átomo com o emprego da microscopia de varredura usando sonda mecânica (*Scanning Probe Microscopy*)[8].

Segundo o pensamento da época, o emprego de materiais em escala nanométrica ofereceria novas oportunidades para aprimorar sua estrutura e funcionalidade em inúmeros campos de aplicação. Ainda, no final dos anos de 1990, considerando as potencialidades dos materiais nanoestruturados, os governos das nações desenvolvidas começaram a incentivar estudos na área de nanotecnologia. Foi instituída, nos Estados Unidos, a fundação U. S. National Nanotechnology Initiative (NNI), que definiu o ritmo de investigação nacional e internacional e o desenvolvimento na ciência e na engenharia de nanoescala, levando o mundo a gerar e usar os novos conhecimentos no campo da nanotecnologia[6].

Até a década de 1990, estudos na área de epidemiologia ambiental apontavam para a relação entre a exposição a aerossóis e maior mortalidade e morbidade. Foram demonstradas relações entre o tamanho de partícula, natureza química e efeitos tóxicos, sendo observadas reações mais pronunciadas, nos pulmões e coração, em decorrência da exposição a partículas de menor tamanho. Porém, apenas nos anos de 1990, surgiram evidências de que as partículas ambientais menores que 2,5 mm poderiam causar efeitos deletérios à saúde como consequência de seu reduzido tamanho[6].

Dois artigos científicos, de Oberdörster et al.[9] e Ferin et al.[10], publicados em 1990, no *Journal of Aerosol Science*, apresentaram questionamentos sobre a resposta pulmonar tóxica a partículas nanométricas de TiO_2 e de Al_2O_3, responsáveis por respostas inflamatórias exacerbadas em pulmão de ratos em comparação com partículas de escala normal dos mesmos materiais. Os autores comprovaram que partículas de diâmetro entre 0,02 e 0,03 mm penetraram muito mais facilmente nas vias aéreas que as maiores (0,2 a 0,5 mm). Ainda, concluíram que as partículas nanométricas, geralmente, formam agregados cujo desempenho aerodinâmico determina sua deposição nas vias aéreas e que, após a deposição, essas partículas tendem a se desaglomerar. Assim, os pesquisadores constataram que a desaglomeração promoveu exposição de área superficial muito maior nos alvéolos dos animais, o que pode ter afetado a translocação (migração da partícula para outro local) mais facilmente do que agregados compostos de partículas maiores. Esses resultados apontaram para dois aspectos toxicológicos importantes dos nanomateriais: o tamanho de partícula e o desempenho dinâmico[6,7,9,10].

Em estudo posterior, Oberdörster et al.[11], usando amostras de TiO_2 de dois tamanhos de partícula, mostraram que a resposta inflamatória em pulmões de ratos seguiu função dose-resposta linear quando

* Nanotubo de carbono é um alótropo de carbono. Alótropos são formas diferentes de um mesmo elemento químico, em função de diferentes arranjos de ligação, que resultam em propriedades diferentes. São exemplos de alótropos o grafite, o diamante e os nanotubos: materiais constituídos de carbono, porém com distintos arranjos entre seus átomos o que acarreta diferentes propriedades físico-químicos.

se considerou como parâmetro de dose a área superficial do material. Outro trabalho com conclusão semelhante foi conduzido por Maynard e Kuempel[12], que usaram a área superficial como parâmetro de dose em vez da tradicional concentração em massa. Nesses experimentos, direcionados à exposição ocupacional de aerossóis, foram utilizados ratos expostos a uma gama de materiais insolúveis, como poeiras ultrafinas e fumos metálicos, entre outros. Contudo, para materiais mais quimicamente ativos, como quartzo cristalino, os autores demonstraram resultado marcadamente diferente na relação dose-resposta e comprovaram que os efeitos tóxicos devidos às nanopartículas não são previsíveis, podendo gerar efeitos biológicos não reconhecidos[11-13].

Nos anos 2000, os estudos e as aplicações das nanopartículas foram se avolumando e, na mesma medida, aumentavam as inquietações sobre as implicações ambientais e de saúde, especialmente as ocupacionais, decorrentes da exposição dos trabalhadores a produtos nanoestruturados. Várias empresas, pesquisadores e associações manifestaram suas preocupações, entre as quais a Sociedade Real de Engenharia (RSEUK) e a Raeuk, ambas do Reino Unido. Essas entidades alegaram que a exposição a produtos nanoestruturados de funcionalidade exclusiva (materiais cuja propriedade decorre do tamanho em nanoescala) pode ter vias de acesso inesperadas e alcançar compartimentos biológicos imprevistos ou, ainda, apresentar comportamento biológico não convencional[5]. Em particular, a preocupação foi expressa sobre o manuseio de material intencionalmente projetado para ter estrutura em nanoescala e nanomateriais, partículas e fibras, uma vez que poderiam oferecer grande potencial de desenvolver novos perigos e riscos.

O termo *nanotoxicologia* foi utilizado inicialmente de modo informal, até que Donaldson et al.[7] sugeriram sua formalização em um editorial na revista *Occupational and Enviromental Medicine*. A partir de então, esse termo foi utilizado para descrever, com mais especificidade, os efeitos deletérios causados pelos nanomateriais à saúde humana, animal e ao meio ambiente. A nova área de conhecimento foi consolidada em 2005, por Oberdörster et al.[14] que lançaram a revista *Nanotoxicology*.

Em 2005, os investimentos das agências federais na pesquisa e desenvolvimento para proteção ambiental e práticas seguras na área de nanotecnologia foram de US$ 34,8 milhões e, estima-se para 2011, recursos de cerca de US$ 117 milhões[6]. O montante de investimentos acarretou no sensível crescimento das pesquisas e publicações sobre o impacto da nanotecnologia na saúde e no ambiente, como pode ser observado na Figura 1.

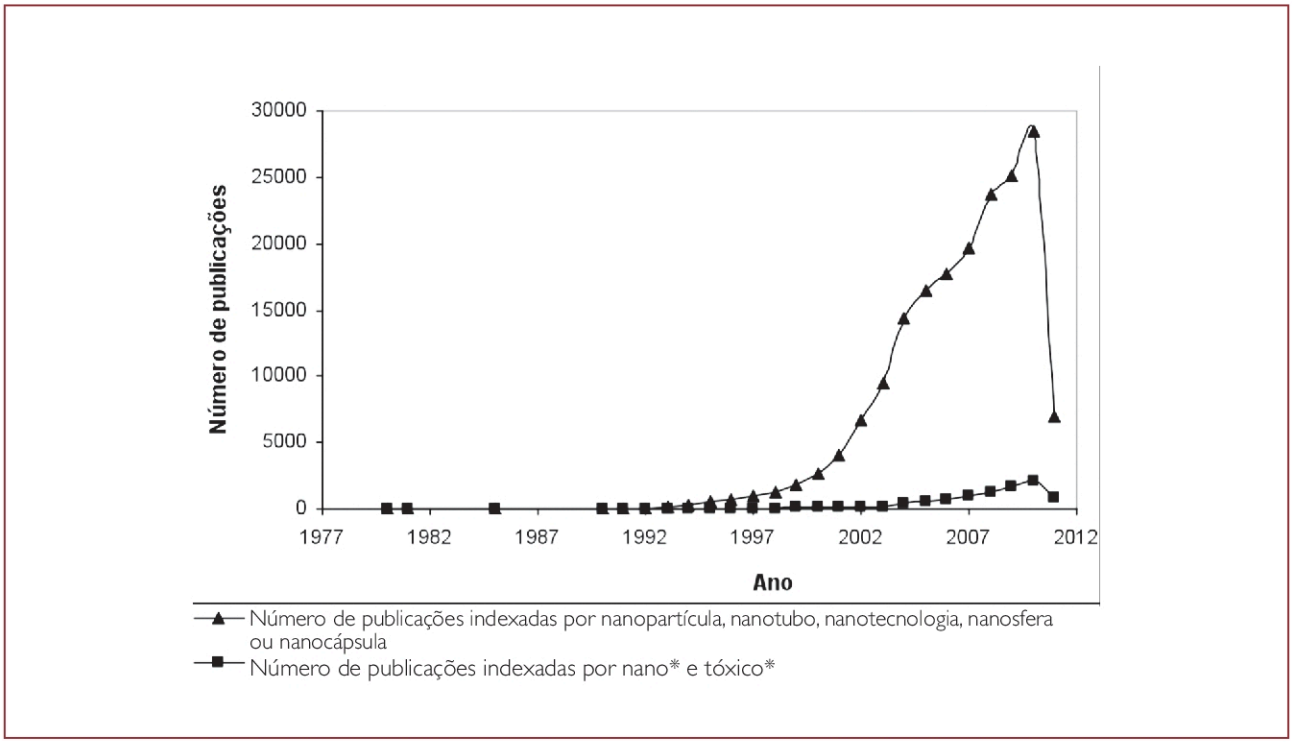


Figura 1. Evolução das publicações sobre materiais nanoestruturados, pesquisados por palavras-chave (nanopartícula ou nanotecnologia ou nanocápsula ou nanotubo or nanosfera) e nano* e tóxico*. As palavras foram pesquisadas no título, no resumo e nas palavras-chave, na base de dados Scopus, de janeiro de 1980 a abril de 2011.

Segundo os especialistas Donaldson e Oberdörster, para aplicar a nanotoxicologia de modo adequado é preciso, em primeiro lugar, definir a nanoescala, uma vez que o termo "nano" foi muito vulgarizado em virtude do sucesso e dos incentivos financeiros aos estudos com esse tipo de material e, por isso, vem sendo aplicado para um intervalo bem maior de diâmetro de partícula que aquele que define os nanomateriais (a rigor, de diâmetro de 1 a 100 nm). Em segundo lugar, os efeitos tóxicos devem decorrer unicamente do tamanho de partícula e não exclusivamente das propriedades químicas do material. Ainda, esses efeitos tóxicos devem ser inesperados ou inusitados ou desconhecidos[15,16].

PRINCIPAIS TIPOS DE NANOPARTÍCULAS E SEUS EFEITOS BIOLÓGICOS E AMBIENTAIS

As nanopartículas definem grande extrato de materiais com diferentes propriedades físicas, químicas e toxicológicas. Portanto, não constituem um grupo homogêneo e são geralmente definidas pelo tipo de núcleo que pode ser orgânico, como os fulerenos (derivados de carbono), nanotubos de carbono (de camada simples ou múltipla) ou inorgânicos, que podem ser divididos em óxidos metálicos (de ferro, zinco, titânio, cério etc.), metais (principalmente ouro e prata) e pontos quânticos (*quantum dots*), como selenito de cádmio (Figura 2). Há outras classificações na literatura para referência a grupos específicos de nanomateriais, como nanocristais, e para designar diferentes morfologias, por exemplo, esferas, pirâmides e cubos. Algumas nanopartículas podem ter suas superfícies manipuladas com a finalidade de introduzir funcionalidades específicas para novas aplicações. Assim, com aditivos na superfície, como revestimentos, tensoativos ou cossolventes, há modificação em sua composição química e abre-se um vasto número de possibilidades para materiais com propriedades diferentes e, portanto, inúmeras interações com organismos e ambiente[1].

Fulerenos

Os fulerenos são moléculas com 60 a 80 átomos de carbono (C_{60}, C_{70}, C_{76} e C_{80}), de estrutura molecular esférica na qual os átomos de carbono estão posicionados nos vértices de uma estrutura icosaédrica. Há mais de 20 anos essas estruturas são estudadas quanto a possíveis aplicações na área biológica, entretanto, um grave problema é a baixa solubilidade. Com o objetivo de melhoraá-la, várias tentativas foram realizadas, como o encapsulamento com polímeros solúveis ou moléculas hospedeiras e modificações químicas com a introdução de grupos hidrofílicos. Dunsch e Yang[17] sugeriram que a incorporação dos furelenos a grupos como aminoácidos, peptídeos ou anticorpos poderia resultar em novas aplicações desses materiais no campo da medicina.

Gelderman et al.[18] demonstraram que derivados de fulerenos [fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$] têm efeito pro-inflamatório e pró-apoptótico em cultura de células endoteliais de veias umbilicais humanas. Os furelenos não modificados são muito insolúveis em água e, por isso, foram misturados a cossolventes, originando agregados desses materiais de cerca de 100 nm, cujos relatos indicam que foram capazes de causar toxicidade em bactérias, peixes e invertebrados. Por outro lado, não se conhecem os mecanismos dessa toxicidade[1,19].

Nanotubos de carbono

Há dois tipos principais de nanotubos: os de camada simples e aqueles com multicamadas. O primeiro apresenta aspecto cilíndrico de cerca de 1 nm de diâmetro e apenas uma camada de átomos de carbono. O segundo tipo é muito semelhante ao anterior, mas tem duas ou mais lamelas concêntricas de carbono, de comprimento e diâmetro variáveis. Ambos os tipos exibem importantes propriedades mecânicas, térmicas, fotoquímicas e elétricas, o que evidencia o interesse industrial por tais estruturas. São materiais robustos e rígidos, mas flexí-

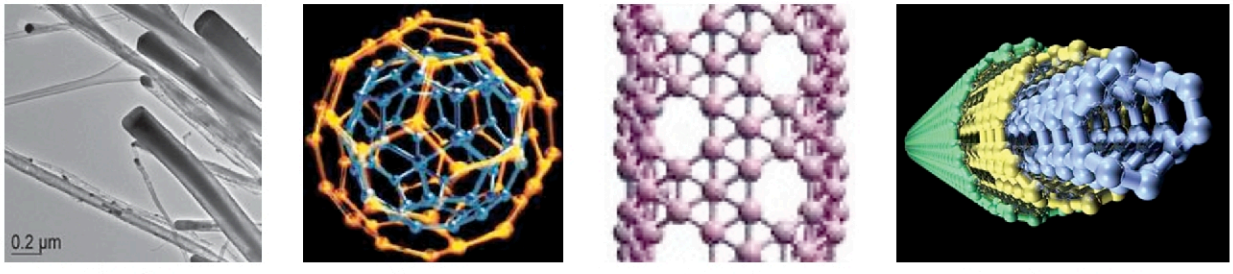


Figura 2. Tipos de nanoparticulas.

veis, e encontram aplicação na construção de espaçonaves, músculos artificiais, veículos aquáticos e terrestres, por exemplo. São ótimos condutores de eletricidade (duas vezes mais que o cobre) e, portanto, também são usados em baterias recarregáveis e semicondutores[1,20]. Na área da saúde, tem potencial para aplicação nos dispositivos para coleta, processamento e armazenamento de derivados de sangue para transfusão, biossensores para diagnósticos (dispositivos carreadores de enzimas, células ou anticorpos para detecção de determinada substância) e sistemas de liberação de fármacos[21].

No organismo humano, atuam como fibras (asbestos) e pouco se conhece sobre as possíveis vias de exposição. No ambiente aquático, há relatos de injúria oxidativa em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostas aos nanotubos, atuando como agente tóxico respiratório. Outro aspecto importante a ser considerado é a pureza desses materiais, que podem carrear metais e solventes utilizados em sua fabricação e que influem significativamente em sua toxicidade[1].

Yang et al.[22] estudaram os efeitos farmacocológicos e toxicológicos de nanotubos de camada simples como carreadores de acetilcolina no tratamento por via oral da doença de Alzheimer. Em doses controladas, verificaram que as nanopartículas liberaram de forma eficiente e moderadamente segura o fármaco no cérebro de ratos, atingindo os lisossomos (organelas-alvo). Entretanto, em altas doses, além dos lisossomos, as mitocôndrias passaram a ser o alvo, havendo produção de espécies reativas de oxigênio intraorganela, o que resultou no colapso das membranas mitocondriais e, portanto, alta toxicidade celular.

Como contribuição à Food and Drug Administration (FDA), agência reguladora americana, na avaliação dos riscos dessas partículas na confecção de dispositivos para a saúde humana, Simak et al.[21] estão estudando o efeito dessas nanoestruturas no sangue e em vasos e células sanguíneas.

Nanopartículas de óxidos metálicos

Nanopartículas de óxidos metálicos são muito empregados nas indústrias de alimentos, materiais e química. Os óxidos de ferro, zinco, titânio, alumínio e silício são amplamente usados há muito tempo nesses segmentos e, há alguns anos, começaram a ser introduzidos na forma de nanopartículas, por exemplo, em cosméticos e protetores solares (TiO_2, Fe_2O_3 e ZnO), dentifrícios (SiO_2), em catálise (TiO_2) e como aditivo em combustíveis (CeO_2).

O emprego comercial das nanopartículas de óxido de ferro inclui aplicações biológicas e pigmentos industriais. Entretanto, para tornar essas partículas mais solúveis, foram usados revestimentos constituídos de w-dicarboxi – poli(etilenoglicol), o que permitiu a nova aplicação como agente de imagem para ressonância magnética no diagnóstico do câncer. Apesar de sua alta utilização, é improvável que esses materiais originem problemas ambientais significativos; ao contrário, compostos de ferro estimulam o crescimento de algas marinhas, as quais, por sua vez, consomem CO_2 atmosférico[1].

O óxido de zinco é um semicondutor com propriedades luminescentes que funciona como bloqueador de radiações UV-A e UV-B, o que lhe confere grande aplicação na indústria cosmética e farmacêutica. Como protetor solar, é considerado grande contaminante ambiental de águas em função do uso humano. Nanopartículas de ZnO parecem não apresentar toxicidade, e ser biosseguras e biocompatíveis. O mesmo não pode ser afirmado para os compostos solúveis que contêm esse óxido metálico, cuja toxicidade ao fitoplâncton marinho parece ser diretamente proporcional à solubilidade[23]. As partículas inorgânicas de TiO_2, SiO_2 e ZnO têm efeito bactericida e a presença de luz parece incrementar essa toxicidade[24]. Adicionalmente, como recomendação geral, a toxicidade de íons livres metálicos precisa ser considerada para todas as nanopartículas inorgânicas[1].

O óxido de titânio é considerado ótimo semicondutor. É amplamente usado em protetores solares, em geral associado ao ZnO, por suas propriedades fotoativas. Há grande interesse na produção de nanofibras, nanotubos e nanofios para uso na conversão de energia solar, fotocatálise e dispositivos fotovoltaicos[1].

As partículas de CeO_2 são usadas como sensores de oxigênio e como aditivo de combustíveis, aumentando sua eficiência. Os estudos realizados até o momento não indicaram toxicidade em ensaios de irritação dérmica, de citotoxicidade ou mutagenicidade em bactérias[25].

Nanopartículas de metais

Os sistemas metálicos são temas de pesquisas para desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e tecnologias para sensores diagnósticos. Os mais estudados são a prata e ouro. A prata apresenta atividades antibacterianas que são exacerbadas quando o metal se apresenta na forma de nanopartículas, em função da elevada superfície de contato. As nanopartículas de prata têm aplicação cosmética e medicinal. São usadas como constituintes de resinas dentárias e no revestimento de equipamentos médicos, como cateteres e sistemas de infusão. O ouro tem propriedades interessantes, comoestabilidade, ser inerte e possuir propriedades ópticas, magnéticas e eletrônicas. Embora ambos os metais tenham toxicidade inerente, a produção de nanopartículas pode aumentar essa propriedade com o incremento da superfície de contato do metal ou diminuir a toxicidade com o uso de revestimentos[1].

Seth et al.[26] relataram que nanopartículas de prata recobertas por albumina sérica bovina atuaram como potente agente contra a tuberculose e foram mais estáveis e biocompatíveis que outras nanopartículas não revestidas ou com outros revestimentos, como PVP, por exemplo.

ASPECTOS TOXICOLÓGICOS E DE BIOSSEGURANCA DOS MATERIAIS NANOPARTICULADOS

O grande desafio da nanotoxicologia é entender e prevenir o risco do uso e/ou exposição a materiais nanoparticulados que podem causar efeitos tóxicos por mecanismos ainda pouco conhecidos ou que não sejam explicados pela toxicologia tradicional, com a aplicação do conceito dose-resposta.

Desde 2005, o Comitê Científico da Comissão Europeia em Riscos Emergentes e Recentemente Identificados à Saúde (*European Comission Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks* – SCENIHR) publicou relatórios e revisões a respeito dos impactos de nanopartículas na saúde. As principais dúvidas do SCENIHR foram se os métodos existentes são apropriados para elucidar os riscos associados aos materiais nanoparticulados ou como os métodos atuais poderiam ser adaptados para tal e, ainda, quais seriam as principais informações necessárias para conhecer os riscos relacionados a esses materiais.

O SCENIHR focalizou os estudos com materiais nanoparticulados que fisicamente são capazes de entrar no organismo humano via inalação, ingestão e absorção dérmica e identificou três parâmetros de toxicidade: tamanho, formato e composição química da partícula. Adicionalmente, explorou como essas características potencialmente afetam a biodisponibilidade e as biointerações e como influenciam na exposição e na dose. Mecanismos específicos de conhecida toxicidade incluem lesão do tecido epitelial, inflamação, estresse oxidativo e alergia. Concluiu-se que os dados disponíveis são insuficientes para identificar e generalizar regras para nortear a toxicologia e a ecotoxicologia de nanoparticulados. Além disso, outros aspectos são importantes na previsão e prevenção dos riscos: entendimento dos mecanismos e da cinética de liberação do nanomaterial; informações sobre a extrapolação de dados toxicológicos de material não nanoparticulado para os nanomateriais; quantificação dos intervalos da possível exposição; geração de dados toxicocinéticos relacionados às vias de entrada no organismo e orientação e prevenção da saúde dos operadores[6].

Embora o primeiro relatório do SCENIHR tenha sido elaborado em 2005, pouco se avançou na elucidação dos questionamentos e no conhecimento dos riscos e toxicologia de nanomateriais. Na tentativa de esclarecer os *mecanismos de toxicidade* dos nanomateriais, Oberdörster[16], realizou intensa revisão e cruzamento de dados na literatura sobre o impacto dos efeitos biológicos e/ou toxicológicos relatados no manuseio e exposição à nanomateriais, por meio da via respiratória, como aerossóis e contaminantes ambientais. Nesse trabalho, o autor comparou partículas de diâmetro menor que 100 nm àquelas com mais de 500 nm e identificou 22 aspectos que considerou potencialmente importantes na influência dos efeitos biológicos relacionados ao tamanho dos materiais. Assim, desenvolveu uma base de dados (*framework*) para conhecimento dos efeitos biológicos de materiais quimicamente semelhantes e diferentes fisicamente, prestando grande contribuição ao desenvolver abordagem toxicológica diferencial entre partículas nanométricas e de escala normal (Quadro 1). Entretanto, ao ignorar partículas de tamanho entre 100 e 500 nm, o autor reconheceu a transição difusa entre partículas grandes e pequenas que nem sempre é regida por limites de tamanho bem definido e abruptas mudanças de comportamento toxicológico.

A partir desse estudo, foram destacados três aspectos dos materiais nanoparticulados que, embora não sejam os únicos, contribuem para a avaliação toxicológica desses materiais: dose, propriedades físico-químicas e biocinética[6,16].

Dose das nanopartículas

A toxicologia de materiais convencionais se fundamenta na observação de Paracelso de que "a dose faz o veneno". Entretanto, em relação aos nanomateriais, ainda há incertezas sobre quais parâmetros representam a dose. O comportamento biológico desses materiais não está relacionado apenas com a sua *quantidade em massa*. O *tamanho* e o *número* de partículas também são parâmetros importantes para estabelecer a relação dose-efeito toxicológico. Por exemplo, 1 mg de partículas carbonáceas esféricas de 10 mm de diâmetro conteria 10^{12} partículas, sendo que a mesma massa de partículas com 10 nm de diâmetro teria 10^{21} partículas[6,16].

A *área superficial* também é um parâmetro importante nesse contexto. Para partículas esféricas com uma massa determinada, a área superficial varia inversamente ao diâmetro das partículas. Assim, enquanto 1 mg de partículas esféricas de carvão com 10 mm diâmetro tem uma superfície de aproximadamente 270 m^2, a mesma massa de partículas, porém com 10 nm de diâmetro, tem uma superfície de 270.000 m^2.[6,16]

A área superficial das partículas tem sido sugerida como uma métrica relevante para avaliação dos efeitos tóxicos devidos às partículas pequenas e insolúveis inaladas. No entanto, segundo Oberdöster[19] a área superficial não pode ser considerada como uma regra geral

Quadro 1. Comparação entre características, parâmetros biocinéticos e efeitos de nanopartículas e macropartículas inaladas.

Parâmetros	Nanopartículas (< 100 nm)	Partículas maiores (> 500 nm)
Características gerais		
Número de partículas /superfície por volume	Alto	Baixo
Aglomeração no ar e em líquidos	Provável	Menos provável
Deposição no trato respiratório	Difusão ao longo do trato respiratório	Sedimentação, impactação e interceptação ao longo do trato respiratório
Translocação para órgãos-alvo secundários		
Depuração	Sim	Em geral, não
Mucociliaridade	Provavelmente sim	Eficiente
Macrófagos alveolares	Poucos	Eficiente
Circulação sanguínea	Sim	Sob sobrecarga
Circulação linfática	Sim	Sob sobrecarga
Captação pelas células	Sim (difusão, endocitose)	Células fagocíticas primárias
Mitocôndria	Sim	Não
Núcleo	Sim (< 40 nm)	Não
Efeitos diretos (devidos à natureza química e que demonstraram dose-dependência)		
Em órgãos secundários	Sim	Não
No sítio de entrada (trato respiratório)	Sim	Sim
Inflamação	Sim	Sim
Estresse oxidativo	Sim	Sim
Genotoxicidade primária	Alguma	Não
Carcinogenicidade	Sim	Sim

Fonte: adaptado de Oberdörster[16].

para ampla gama de materiais e vias de exposição. Mesmo com materiais bem estudados como TiO_2, não está comprovado que esse parâmetro por si só seja um bom indicador de resposta biológica à exposição. Na Tabela 1, está ilustrada a relação entre diâmetro, número de partículas e área superficial.

Propriedades físico-químicas das nanopartículas

A forma física e a composição química dos materiais produzem respostas toxicológicas que podem ser associadas a vários parâmetros físico-químicos, os quais são afetados por alterações dinâmicas nos materiais, em função do tempo ou lote a lote. O grande desafio é conhecer e estabelecer relações entre as propriedades físico-químicas, as interações biológicas e os riscos dos nanoparticulados[6,16].

Os pesquisadores têm se esforçado em identificar e relacionar as características físico-químicas de importância na avaliação dos riscos de material nanoparticulado. No Quadro 2 são apresentadas as propriedades físico-químicas de relevância toxicológica e que podem variar de acordo com o método de preparo e o armazenamento das partículas e sua via de introdução em outro sistema e no organismo.

A agregação e a aglomeração das partículas apresentam desafios específicos em estudos toxicológicos. O processo de união das partículas para formar aglomerados (ligações fracas) ou agregados (ligações fortes) altera sensivelmente o tamanho, a dinâmica e as propriedades dos sistemas resultantes. No ar, as mudanças no tamanho das partículas pela aglomeração influenciam o transporte, a deposição, a translocação do material inalado, no interior do trato respiratório, e sua eliminação

Tabela 1. Diâmetro, número e área superficial de partículas na atmosfera para partículas com densidade de 10 pg cm^{-3}.

Diâmetro (nm)	Número de partículas (N cm^{-3})	Área superficial (μm^2 cm^{-3})
5	153.000.000	12.000
20	2.400.000	3.016
250	1.200	240
5.000	0,15	12

Fonte: adaptada de Oberdöster[16].

Quadro 2. Propriedades físico-químicas de nanopartículas de importância toxicológica.

Propriedades gerais	Tamanho médio e distribuição do tamanho
	Forma
	Aglomeração/agregação
	Solubilidade: aquosa, lipídica e nos líquidos biológicos
Propriedades de superfície	Área superficial – porosidade
	Carga
	Reatividade
	Características químicas: revestimentos, contaminantes
	Defeitos

Fonte: adaptado de Oberdöster[16].

do organismo. Da mesma forma, a aglomeração e a agregação de líquidos afetam o modo como o material é transportado, como se distribui e de que forma interage com o ambiente e com o organismo[16].

A estrutura cristalina das nanopartículas também pode ter influência na sua toxicidade. Foi demonstrado que o polimorfo anastase do dióxido de titânio apresentou capacidade mais acentuada de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) que a forma rutilo do mesmo material. Adicionalmente, foi constatado que houve relação direta entre o tamanho das partículas e a capacidade de geração de EROs. No entanto, em materiais de tamanhos muito reduzidos como os nanométricos, a estrutura da superfície pode mudar consideravelmente, assim, não está claro se essa diferença de comportamento químico se deve a diferenças de superfície ou no dimensionamento das partículas. Os autores especulam que a *densidade de defeitos na superfície* das partículas possa ser outro parâmetro físico-químico de potencial interesse para a compreensão da toxicidade dos nanomateriais[6].

Biocinética das nanopartículas

O transporte, a deposição, a transformação e a depuração dos nanomateriais no organismo estão intimamente associados à forma física e à composição química. A compreensão da *biocinética* dos nanomateriais fornece informações sobre doses que alcançam órgãos secundários e é essencial para a concepção e interpretação de estudos *in vitro*.

Estudos de inalação com nanopartículas de irídio de diâmetro entre 15 e 80 nm demonstraram a translocação das partículas inaladas para os órgãos extrapulmonares. Também comprovaram que nanopartículas podem atravessar a barreira hematoencefálica e, nesse caso, interagir com células nervosas do sistema nervoso central, bem como são capazes de atravessar a placenta, sugerindo a possibilidade de efeitos teratogênicos[6].

Xiea et al.[27] estudaram a farmacocinética de partículas de TiO_2, de cerca de 20 nm de diâmetro, em ratos e camundongos, após administração intravenosa de doses de 10 mg/kg de peso. As partículas se acumularam sobretudo no fígado e no baço e ficaram retidas por mais de trinta dias por causa da fagocitose por macrófagos. A excreção foi principalmente por via renal.

PRINCIPAIS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS PARA ESTUDAR OS ASPECTOS TOXICOLÓGICOS MAIS RELEVANTES DAS NANOPARTÍCULAS

Os aspectos dos nanomateriais mais estudados nos estudos toxicológicos incluem a distribuição de tamanho das partículas, área superficial e reatividade (química e carga), forma, composição química, pureza, estado de agregação, estrutura cristalina e porosidade[28].

O tamanho, a forma e o estado de agregação são estudados principalmente por microscopia eletrônica. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada com menos frequência enquanto a microscopia de eletrônica de transmissão (MET) é a mais adequada uma vez que sua resolução é de 0,5 a 3 nm e a da MEV, de 5 nm. Tanto MEV como MET só podem ser aplicadas em amostras sólidas e as medidas são dadas em apenas duas dimensões. Para informações em três dimensões pode ser aplicada a microscopia de varredura por sonda (MVS) que pode fornecer imagens da superfície dos nanomateriais. Na Figura 3, pode ser observada foto-

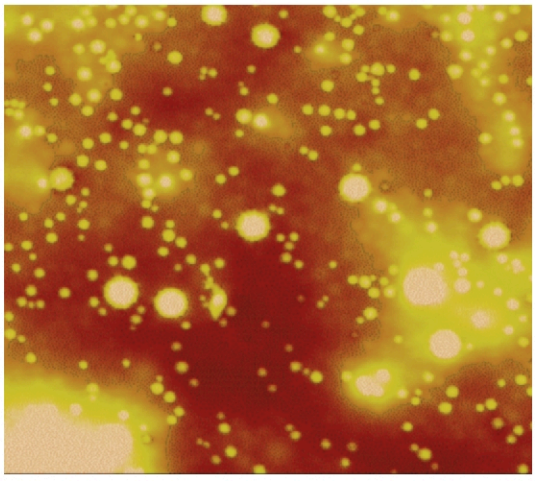


Figura 3. Nanopartículas de poli (n-butil cianoacrilato), contendo aciclovir. Fotomicrografia obtida por meio de microscopia de força atômica. Autor: Guilherme Diniz Tavares.

micrografia de nanopartículas contendo aciclovir e desenvolvidas para fins terapêuticos, obtida pela técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM – Atomic Force Microscopy), uma das modalidades da MVS. Porém, nem todos os laboratórios de pesquisa em nanomateriais estão capacitados para essa técnica. A composição química é geralmente analisada por técnicas espectroscópicas complementares que incluem espectrometria de plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma* – ICP), difração de raios X, ressonância magnética nuclear, espectrofotometria UV-Visível e espectrofluorimetria[28,29].

A ICP é geralmente usada para obter maiores detalhes da composição química, enquanto a difração de raios X oferece informações sobre a estrutura atômica da superfície, como cristalinidade e carga. A espectroscopia fotônica de raios X analisa a superfície química e detalha revestimentos, carga, composição química e superfície. Os nanomateriais também podem ser avaliados no ambiente, em tempo real, por analisadores de tamanho e número de partículas (*particle sizers and particle counters*). Com esses equipamentos é possível classificar aerossóis quanto a tamanho, número e mobilidade das partículas. Dependendo do tipo de amostradores, também podem ser acessadas informações relativas às propriedades aerodinâmicas, como estado de agregação em diferentes meios[28].

Por outro lado, não há métodosoue técnicas padronizadas, tampouco regulamentação para avaliação dos riscos biológicos e ambientais devidos aos nanomateriais. Por exemplo, não existe padronização sobre a avaliação do grau de agregação das nanopartículas e quanto aos meios empregados para essa determinação, entretanto, essa é uma característica que causa grande impacto na saúde humana e no meio ambiente. Assim, é muito difícil predizer o grau de risco de determinado material com as técnicas e métodos disponíveis[28].

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez que as nanopartículas têm maior potencial de se deslocar pelo organismo que os materiais constituídos de partículas maiores, os pesquisadores alertam sobre a possibilidade de inúmeras interações com fluidos biológicos, células e tecidos. Adicionalmente, no sítio-alvo, os nanomateriais têm potencial para desencadear mediadores que podem ativar respostas inflamatórias e imunológicas. Em decorrência do seu potencial invasivo, podem afetar as funções cardíaca e cerebral, portanto, é recomendável o mapeamento dessas vias para cada novo material.

Os cientistas, as organizações internacionais e as agências regulatórias estão trabalhando ativamente para desenvolver ferramentas para a avaliação dos riscos devidos às nanopartículas sobre os indivíduos. De modo geral, ainda não é possível completar essa avaliação em decorrência de muitas incertezas e lacunas de conhecimento sobre os novos aspectos do processo de avaliação[5].

Entre outros desafios, há falta de dados quantitativos sobre a exposição e perigo tanto para humanos como para espécies ambientais para muitas nanopartículas. Além disso, foram levantadas muitas preocupações de aspecto metodológico, incluindo a incerteza na caracterização das nanopartículas com a aplicação de métodos desenvolvidos e padronizados para avaliação de produtos químicos, por exemplo, para quantificar os riscos, incluindo o preparo das amostras para os estudos de toxicidade, caracterização das nanopartículas por técnicas em estudo, dosimetria, entre outros. Adicionalmente, há dificuldades na detecção e quantificação de nanopartículas em matrizes mais complexas.

Grieger et al.[5] sugerem que, enquanto as questões relativas à segurança das nanopartículas estão sendo encaminhadas, faz-se necessário o desenvolvimento de uma vigilância de saúde e do ambiente para atuar como uma rede de segurança e como um sistema preliminar de alerta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ju-nam Y, Lead JR. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. Sci Total Environ. 2008;400:396-414.
2. Huang C, Notten A, Rasters N. Nanoscience and technology publications and patents: a review of social science studies and search strategies. J. Technol. Transf. 2011;36:145-72.
3. Pujalté I, Passagne I, Brouillaud B, Tréguer M, Durand E, Ohayon-Courtès C, et al. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. Part Fibre Toxicol. 2011; 8:1-16.
4. Borm PJA, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Donaldson K, Schins R, et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. Part Fibre Toxicol. 2006;3(11):1-35.
5. Grieger KD, Baun A, Owen R. Redefining risk research priorities for nanomaterials. J Nanopart Res. 2010;12:383-92.
6. Maynard AD, Warheit DB, Philbert MA. The new toxicology of sophisticated materials: nanotoxicology and beyond. Toxicol Sci. 2011;120(S1):S109-29.
7. Donaldson K, Stone V, Tran CL, Kreyling W, Borm PJA. Nanotoxicology. Occup Environ Med. 2004; 61:727-8.
8. Ijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. Nature. 1991;354:56-8.
9. Oberdörster G, Ferin J, Finkelstein G, Wade P, Corson N. Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles. Lung lavage studies. J Aerosol Sci. 1990;21:384-7.
10. Ferin J, Oberdörster G, Penney DP, Soderholm SC, Gelein R, Piper HC. Increased pulmonary toxicity of

ultrafine particles? I. Particle clearance, translocation, morphology. J Aerosol Sci. 1990;21:381-4.
11. Oberdörster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R, et al. Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. Res Rep Health Eff Inst. 2000;(96):5-74; disc. 75-86.
12. Maynard AD, Kuempel ED. Airborne nanostructured particles and occupational health. J Nanopart Res. 2005;7:587-614.
13. Maynard D, Coull BA, Gryparis A, Schwartz J. Mortality risk associated with short-term exposure to traffic particles and sulfates. Environ Health Perspect. 2007;115(5):751-5.
14. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Health Perspect. 2005;113:823-39.
15. Donaldson K, Poland CA, Schins RP. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: criteria for improved test strategies. Nanotoxicology. 2010;4:414-20.
16. Oberdörster G. Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: Concepts of nanotoxicology. J Intern Med. 2010;267:89-105.
17. Dunsch L, Shangfeng S. Metal nitride cluster fullerenes: their current state and future prospects. Small. 2007;3(8):1298-320.
18. Gelderman MP, Simakova O, Clogston JD, Patri AK, Siddiqui FS, Vostal AC, et al. Adverse effects of fullerenes on endothelial cells: Fullerenol C60(OH)24 induced tissue factor and ICAM-1 membrane expression and apoptosis in vitro. Int J Nanomedicine, 2008;3(1):59-68.
19. OBerdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. Environ Health Perspect. 2004;112(10):1058-62.
20. Braun T, Schubert A, Zsindely S. Nanoscience and nanotechnology on the balance. Scientometrics, 1997;38 (2):321-5.
21. Simak J. Investigation of potential toxic effects of engineered nanoparticles and biologic microparticles in blood and their biomarker applications. Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services. Science and Research – Biologic Research Projects. Disponível em: http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/ScienceResearch/BiologicsResearchAreas/ucm127045.htm. Acesso em: 15/8/2011.
22. Yang Z, Zhang Y, Yang Y, Sun L, Han D, Li H, et al. Pharmacological and toxicological target organelles and safe use of single-walled carbon nanotubes as drug carriers in treating Alzheimer disease. Nanomedicine. 2010;6:427-41.
23. Miao AJ, Zhang XY, Luo Z, Chen CS, Chin WC, Santschi PH, et al. Zinc oxide-engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton. Environ Toxicol Chem. 2010; 29(12):2814-22.
24. Nowack B, Bucheli TD. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. Environ Pollut. 2007;150:5-22.
25. Prospect, Global Nanomaterials Safety. Toxicological review of nano cerium oxide. Disponível em http://www.nanotechia-prospect.org/managed_assets/files/prospect_nano-ceo2_literature_review.pdf. Acesso em: 22/08/2011.
26. Seth D, Choudhury SR, Pradhan S, Gupta S, Palit D, Das S, et al. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drug-resistant clinical isolates of tuberculosis. Curr Microbiol. 2011;62:715-26.
27. Xie G, Wanga C, Suna J, Zhongb G. Tissue distribution and excretion of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles. Toxicol Lett. 2011;205(1):55-61.
28. Gwinn MR, Tran L. Risk management of nanomaterials. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanotechnol. 2010;2(2):130-7.
29. Neves BRA, Vilela JMC, Andrade MS. Microscopia de varredura por sonda mecânica: uma introdução. Cerâmica. 1998;44(290):212-9.
30. Maynard AD. Nanotechnology: the next big thing, or much a do about nothing? Ann Occup Hyg. 2007;51:1-12.
31. Maysinger D, Lovric J, Eisenberg A, Savic R. Fate of micelles and quantum dots in cells. Eur J Pharm Biopharm. 2007;65:270-81.

Glossário

ABNT NBR ISO 14001(2004): norma voltada à gestão ambiental, envolvendo atividades, produtos e serviços.

ABNT NBR ISO 9001(2008): norma voltada à gestão e garantia da qualidade de produtos e serviços.

Ação corretiva: ação implementada para eliminar as causas de uma não conformidade, de um defeito ou de outra situação indesejável existente, a fim de prevenir sua repetição.

Ação preventiva: ação implementada para eliminar as causas de uma possível não conformidade, defeito ou outra situação indesejável, a fim de prevenir sua ocorrência.

Ácido desoxirribonucleico: material genético que contém informações determinantes dos caracteres hereditários transmissíveis à descendência.

Acondicionamento: ato de embalar os resíduos de serviços de saúde, em recipiente, para protegê-los de risco e facilitar o seu transporte.

Aerossol: sistema de partículas dispersadas em um gás, fumaça ou névoa.

Agente: substância ou entidade que causa uma reação ou resposta.

Agente corrosivo: agente que causa destruição visível no sítio de contato.

Agente etiológico: agente causador de uma doença.

Agente infeccioso: agente que pode invadir os tecidos do corpo e multiplicar-se, causando infecção.

Amostra: uma pequena parte que representa um todo ou um lote.

Amostra analítica: amostra preparada no laboratório da qual são retiradas porções analíticas.

Amostragem: procedimento normatizado de tomada de amostras.

Análise de perigos e pontos críticos de controle: sistema que identifica perigos químicos, biológicos ou físicos e determina medidas preventivas necessárias de monitoração do controle de qualidade.

Antisséptico: germicida químico formulado para ser usado na pele ou tecido.

Apassivação de resíduo: diminuição ou eliminação da periculosidade do material ou da possibilidade de ocorrência de reações perigosas.

Armazenamento: procedimentos para conservação adequada e segura de produtos e de insumos.

Armazenamento externo de resíduos: guarda temporária adequada, no aguardo da coleta externa.

Armazenamento interno de resíduos: guarda temporária dos recipientes, em instalações apropriadas, localizadas na própria unidade geradora, de onde devem ser encaminhados, através da coleta interna II, para o armazenamento externo.

Atividade de um material radioativo: número de transições radioativas que ocorrem numa amostra por unidade de tempo.

Atividade específica: evento mensurável por unidade de massa, por unidade de tempo.

Atuação responsável: melhoria continua das condições de segurança, proteção à saúde e ao meio ambiente em relação às atividades que envolvem as substâncias químicas perigosas.

Biodiversidade: o mesmo que diversidade biológica.

Biorreatores: são equipamentos nos quais ocorrem reações químicas catalisadas por biocatalisadores que podem ser enzimas ou células vivas (microbianas, animais ou vegetais). São, também, denominados de "reatores bioquímicos" ou "reatores biológicos" e podem operar a alta pressão, apesar de, em geral, trabalharem a baixas pressões, pois as únicas fontes de entrada de energia são, em geral, as dos agitadores e aeradores.

Biossegurança: conjunto de ações voltadas para a prevenção, a minimização, o controle ou a eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, riscos que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos. Assegura o avanço tecnológico e protege a saúde humana e o meio ambiente.

Biosseguridade: estabelecimento de um nível de segurança de seres vivos por intermédio da diminuição do risco de ocorrência de enfermidades em uma determinada população pelo uso deliberado de um agente biológico.

Biotecnologia: conjunto de conhecimentos, técnicas e métodos, de base científica ou prática, que permite a utilização de seres vivos como parte integrante e ativa do processo de produção industrial de bens e serviços.

Boas práticas de fabricação: princípios gerais que abrangem etapas que vão da matéria-prima ao produto final, e ainda o envolvimento com os consumidores finais.

Boas práticas de laboratório: normas de conduta e de procedimentos que regem os trabalhos de laboratórios, de modo a garantir a segurança individual e coletiva, bem como a reprodutibilidade da metodologia e dos resultados obtidos.

Certificado: declaração escrita por um organismo certificador de que um produto, serviço ou laboratório clínico satisfaz certas especificações ou requisitos.

Centrifugação: é uma operação unitária que emprega energia sobre uma elevada concentração de microrganismos a fim de separá-los de urna solução com densidade diferente.

Coleta externa: operação de remoção e transporte de recipientes do abrigo de resíduo, através do veículo coletor, para o tratamento e/ou destino final.

Coleta interna I: operação de transferência dos recipientes do local de geração para a sala de resíduo.

Coleta interna II: operação de transferência dos resíduos da sala de resíduos para o abrigo de resíduos ou diretamente para tratamento.

Concentração bactericida mínima: concentração mais baixa de um agente antimicrobiano que mata 99,99% de células bacterianas expostas ao agente após um determinado tempo no teste de sensibilidade de diluição em caldo.

Concentração da atividade de um material radioativo: a atividade do radionuclídio contido no volume do material.

Concentração inibitória mínima: concentração mais baixa de um agente antimicrobiano, que previne o crescimento visível de um microrganismo em um teste de sensibilidade de diluição em caldo ou ágar.

Concentração letal mínima: concentração mais baixa de um agente antimicrobiano, que mata uma proporção definida de células bacterianas ou de fungos expostos ao agente após um determinado tempo fixo em um teste de sensibilidade de diluição em caldo.

Contaminante: microrganismo, material químico ou outro tipo de material, que torna alguma coisa impura por contato ou mistura.

Contêiner: equipamento fechado, de capacidade superior a 100 L, empregado no armazenamento de recipientes.

Contenção primária: consiste na provisão de barreiras físicas imediatas à liberação de compostos de risco que devem ser previstas no projeto de implantação do processo biotecnológico e cuja principal função é prevenir a liberação do conteúdo dos equipamentos e utensílios do processo.

Contenção secundária: é instalada para auxiliar no caso de falhas na contenção primária. Ela proporciona algum tipo de retenção física e, muitas vezes, é considerada uma otimização da contenção primária.

Contenção terciária: esse tipo de contenção descreve o uso de instalações que visam prevenir a contaminação do ambiente externo ao laboratório ou à área de produção.

Cromatografia líquida de alta resolução: método de exame para realizar separações cromatográficas de compostos orgânicos nos quais o eluente, ou transportador, é um líquido sob pressão.

Descontaminação: procedimento que elimina ou reduz agentes tóxicos ou microbianos a um nível seguro com respeito à transmissão de infecção ou outras doenças adversas.

Desinfecção: destruição de agentes infectantes na forma vegetativa situados fora do organismo, mediante a aplicação direta de meios físicos ou químicos.

Desinfetante: agente com o propósito de destruir ou inativar irreversivelmente todos os microrganismos,

mas não necessariamente seus esporos, em superfícies inanimadas, como as superfícies de trabalho.

Desinfetante hospitalar: agente com eficácia demonstrada contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Detecção: determinação de um ou mais parâmetros biológicos, químicos ou físicos de um material, produto ou preparado, que são relevantes para a sua utilização.

Detector: dispositivo ou substância que indica a presença de um fenômeno, sem necessariamente fornecer um valor de uma grandeza associada.

Diluente: material utilizado para diminuir a concentração de um analito em uma determinada amostra.

Diluição: processo de acrescentar um material, geralmente um líquido ou gás, a outro material ou substância com o propósito de diminuir a sua concentração.

Diluição em série: a diluição progressiva de um material ou substância em proporções predeterminadas.

Disposição final: fase do manejo externo do resíduo que implica na deposição correta do resíduo no meio ambiente sem oferecer riscos aos entes naturais ou à saúde pública. Pode ser um aterro sanitário, uma vala séptica ou uma vala num aterro químico.

Diversidade biológica: variabilidade de organismos vivos de todas as origens, compreendendo, entre outros, os ecossistemas terrestres, marinhos e demais ecossistemas aquáticos, e os complexos ecológicos de que fazem parte; abrange também a variabilidade dentro de espécies, entre espécies e de ecossistemas.

DNA recombinante: qualquer tipo de manipulação de DNA fora das células vivas, mediante a modificação de segmentos de DNA natural ou sintético que possam multiplicar-se em uma célula viva, ou ainda, as moléculas de DNA resultantes dessa multiplicação. Consideram-se, ainda, os segmentos de DNA sintéticos equivalentes aos de DNA natural.

Diretriz: orientação para direcionamento de atividades, comportamentos e procedimentos gerais, visando alcançar objetivos.

Endêmico: exclusivo de determinada região ou área geográfica.

Engenharia genética: atividade de manipulação de moléculas de DNA recombinante.

Enzimas: são proteínas especializadas na catalisação de reações metabólicas.

Estabelecimento gerador de resíduo: instituição que, em razão de suas atividades, produz resíduos de serviços de saúde.

Esterilidade: completa ausência de microrganismos vivos.

Esterilização: destruição ou eliminação total de todos os microrganismo na forma vegetativa ou esporulada.

Esterilizador: agente, processo ou aparelho capaz de destruir todos os microrganismos.

Estrutura organizacional: responsabilidades, vinculações hierárquicas e relacionamentos, configurados segundo um modelo através do qual uma organização executa suas funções.

Ferramentas da qualidade: procedimentos úteis na manutenção e melhoria contínua da qualidade de produtos e serviços.

Filtração: é o processo de remoção física de materiais suspensos de um determinado volume de líquido ou gás, por pressionamento através de um material poroso (membrana filtrante) que retém a fração sólida e permite a passagem do fluido.

Flebotomia: punção de uma veia ou artéria para coletar sangue para propósitos terapêuticos ou diagnósticos.

Ficha de informações sobre a segurança do material: documento informacional descrevendo os perigos apresentados por um agente químico e que deve ser fornecido pelo fabricante.

Gene: unidade física e funcional da hereditariedade, que transmite a informação genética de uma geração para outra.

Geração de resíduo: transformação de material utilizável em resíduo.

Germicida: termo geral que indica um agente que mata microrganismos patogênicos em superfícies inanimadas.

HACCP: *Hazard Analysis Critical Control Point*, isto é, Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle. Sistema que identifica perigos químicos, biológicos ou físicos e determina medidas preventivas necessárias de controle.

Laboratório clínico: instalação destinada à realização de análises clínicas, com a finalidade de fornecer informações para o diagnóstico, a prevenção ou o tratamento de qualquer doença ou deficiência de seres humanos, ou para a avaliação da saúde dos mesmos.

Laboratório de ensino: laboratório que é utilizado para fins didáticos ou de treinamento.

Laboratório de pesquisa: instalação destinada à realização de pesquisas biológicas, químicas, físicas, biofísicas, patológicas e outras.

Laboratório institucional: laboratório que está subordinado administrativamente a uma instituição pública ou privada.

Limite de confiança: número ou par de números que definem um intervalo de confiança.

Limite de detecção: capacidade de identificar a presença de um analito em determinadas condições ou de determinar quantitativamente a sua quantidade dentro de limites definidos de precisão.

Limite de quantificação: a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão aceitável conhecida e exatidão aceitável definida, sob condições experimentais conhecidas.

Limite de tolerância: limites especificados para erro permitido.

Limpeza e desinfecção simultânea: processo de remoção de sujidade e desinfecção, mediante uso de formulações associadas de um detergente com uma substância desinfetante.

Material biológico infeccioso: material que se sabe conter microrganismos viáveis ou outros agentes transmissíveis (exemplo: príons), conhecidos ou suspeitos de causar doenças no homem.

Material genético: todo material de origem vegetal, animal, microbiana ou outra, que contenha unidades funcionais de hereditariedade.

Material reciclável: qualquer material que, após receber tratamento ou beneficiamento, possa ser reutilizado para obtenção de novos produtos.

Método de solução de problemas: visa manter e melhorar a qualidade e tem como base o PDCA, que significa Planejamento (*Plan*), Execução (*Do*), Verificação (*Check*) e Ação (*Action*).

Microrganismo: organismo que é pequeno demais para ser visto a olho nu, tais como bactérias, vírus, fungos, protozoários e algas.

Operações unitárias: são operações necessárias para a condução de determinada reação ou transformação química, em escala industrial.

Organismo: toda entidade biológica capaz de reproduzir e/ou de transferir material genético, incluindo vírus, príons e outras classes que venham a ser conhecidas.

Organismo geneticamente modificado: organismo cujo material genético tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.

Padrão: material de medida, instrumento de medição, material de referência ou sistema de medição destinado a definir, conservar ou reproduzir uma unidade ou mais valores de uma grandeza para servir como referência.

Pequeno gerador de resíduo: estabelecimento cuja produção semanal de resíduos de serviços de saúde não excede a 700 L e cuja produção diária não excede a 150 L.

Perfurocortantes: materiais resultantes dos serviços de saúde, capazes de ferir quem os manipula, oferecendo riscos de contaminações.

Plano de ação: planejamento de atividades e meios com vistas à implementação de uma estratégia ou a obtenção de um objetivo específico.

Processo analítico: conjunto de operações, descrito especificamente, usado na realização de exames de acordo com determinado método.

Produção de produtos biotecnológicos: conjunto de etapas de um processo biotecnológico que engloba a fermentação e as etapas anteriores a ela, com preparo de meio de cultivo, conservação e ativação do microrganismo, preparo do inóculo, esterilização de equipamentos de ar.

Programa 5S: é considerado como base para implantação da Qualidade Total, além de outros programas. Tem seu nome vinculado a cinco palavras japonesas iniciadas por S — *seiri*, *seiton*, *seisou*, *seiketsu* e *shitsuke*, interpretadas como sensos.

Purificação de produtos biotecnológicos: conjunto de etapas de um processo biotecnológico que engloba os processos de recuperação e purificação de bioprodutos, como centrifugação, rompimento celular, extração líquido-líquido, filtração, processos cromatográficos e acabamento final do bioproduto.

Qualidade: totalidade das características de uma entidade que pesam sobre a sua capacidade de satisfazer as necessidades declaradas e implícitas.

Qualidade total: expressa-se por princípios que proporcionam a uma organização a sobrevivência num ambiente altamente competitivo.

Radiomarcação: processo de incorporar um radionuclídeo ou covalentemente ligá-lo a uma molécula.

Radionuclifdeo: nuclídeo que é radioativo.

Reagente: substância empregada para produzir uma reação bioquímica, química, citoquímica, imunoquímica, histológica, imunológica ou similar, ou para converter uma substância em outra.

Recepção: conjunto de procedimentos necessários para garantir que os produtos, materiais e amostras recebidos tenham e mantenham as especificações originais.

Recipiente: objeto capaz de acondicionar resíduos sólidos e líquidos, tais como: saco plástico, galão e caixa.

Recipiente rígido: invólucro resistente e estanque, empregado no acondicionamento de resíduo perfurante e cortante.

Recursos biológicos: compreende recursos genéticos, organismos (ou partes desses), populações ou qualquer outro componente biótico de ecossistemas, de real ou potencial utilidade ou valor para a humanidade.

Recursos genéticos: material genético de valor real ou potencial.

Resíduo comum: resíduo de serviço de saúde que não apresenta risco adicional à saúde pública.

Resíduo: qualquer material para o qual não há mais uso futuro. Pode resultar de produtos ou materiais biológicos e químicos ou de atividades institucionais ou domésticas (exemplo: lixo)

Resíduo classe I: resíduos classificados como perigosos pela norma 10004 da ABNT, por apresentarem riscos à saúde pública e ao meio ambiente.

Resíduo classe II: resíduo composto por materiais classificados como perigosos, porém em concentrações (ou outra condição qualquer) que o coloque abaixo do limite de periculosidade estabelecido.

Resíduo do serviço de saúde: resíduos resultantes das atividades exercidas dentro de estabelecimentos dos serviços de saúde e que oferecem riscos de contaminações radioativas, químicas ou biológicas.

Resíduo especial: resíduo de serviço de saúde do tipo farmacêutico, químico perigoso e radioativo.

Resíduo farmacêutico: produto medicamentoso no todo ou em parte com prazo de validade vencido, contaminando, interditado ou não utilizado total ou parcialmente.

Resíduo biológico: resíduo que contém ou pode conter patógenos de virulência e quantidade suficientes, de modo que a exposição ao resíduo por um hospedeiro susceptível possa resultar em uma doença.

Resíduo infectante: resíduo de serviço de saúde que, por suas características de maior virulência, infectividade e concentração de patógenos, apresenta risco potencial adicional à saúde pública.

Resíduo químico perigoso: resíduo químico que, de acordo com os parâmetros da NBR 10004, possa provocar danos à saúde ou ao meio ambiente.

Resíduo radioativo: substância radioativa a níveis acima dos limites de segurança (mais do que 0,05 mCi).

Rejeito radioativo: material radioativo ou contaminado com radionuclídeos, proveniente de laboratório de pesquisa, de ensino, de serviços de medicina nuclear e de radioterapia (Resolução CNEN-NE 6.05).

Resolução: menor diferença entre indicações de um dispositivo mostrador que pode ser significantemente percebida.

Rótulo: identificação impressa, litografada, pintada, gravada a fogo, a pressão ou decalque, aplicada diretamente sobre recipientes, envoltórios ou qualquer outro protetor de embalagem interna ou externa, não podendo ser removida ou alterada facilmente com o uso do produto, durante o transporte ou armazenamento do mesmo.

Sala de resíduos: elemento destinado ao armazenamento interno.

Segregação: operação de separação dos resíduos no momento da geração, de acordo com a classificação adotada pela NBR 12808.

Segurança: estado no qual o risco de danos pessoais está limitado a um nível aceitável.

Segurança básica: proteção contra riscos físicos diretos, quando aparelhos laboratoriais são adequadamente usados sob condições normais ou razoavelmente previsíveis, relacionadas, como por exemplo, à força mecânica, biocompatibilidade e esterilidade.

Série ISO 14000: normas internacionais voltadas à gestão ambiental. A ISO 14004 determina as diretrizes gerais, enquanto a ISO 14001 fornece a especificação e as diretrizes para uso.

Série ISO 9000: normas internacionais que compreendem modelos para garantia da qualidade. Compõe-se das normas ISO 9000, 9001, 9002, 9003 e 9004.

Serviços de saúde: estabelecimento destinado à prestação de assistência sanitária à população.

Solução analítica: solução preparada por dissolução, com reação ou não, de uma porção analítica de um gás, líquido ou sólido.

Substância infecciosa: substância que contém um microrganismo viável ou suas toxinas, ou um ácido nucleico viral que reconhecidamente pode causar doenças.

Toxina: substância nociva ou venenosa produzida por um organismo, e caracterizada por peso molecular alto e antigenicidade em certos animais.

Unidade geradora: conjunto de elementos funcionalmente agrupados, onde são gerados, acondicionados e armazenados os resíduos de serviços de saúde.

Vala séptica: vala escavada no solo obedecendo critérios técnicos específicos que a torne adequada para receber resíduos dos serviços de saúde. Local para disposição final dos resíduos classe A.

Validação: comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos.

Veículo coletor: veículo utilizado para a coleta externa e o transporte de resíduos de serviços de saúde.

Venipuntura: punção de uma veia para propósitos terapêuticos ou cirúrgicos, ou para coletar espécimes de sangue para análise.

Índice remissivo

A

Abafamento 39
Abordagem Kuettner 253
Acabamento 218
Acetona 187
Acetonitrila 87
Acidentes na indústria biotecnológica 214
Ácido fluorídrico 101
Administração da Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA) 156, 157
Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) 253
Aerossóis de culturas de S. marcescences 44
Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) 151, 157
Agente
  carcinogênico 158, 159
  patogênico 200
  químico 185
    segundo o tipo de risco e o modo de ação 188
Agentes químicos, biomarcadores e índices biológicos máximos permitidos 187
Agitador de tubos 44
Agitador magnético 3
Álcoois 87
Álcool etílico 187
Aldeídos hidrossolúveis 101
Alergias 198
American National Standard Institute (ANSI) 29
American Society of Testing Material (ASTM) 29
Amostra biológica 10, 328
Análise dos riscos do trabalho que envolve carcinogênicos 158
Animais transgênicos 6
Antibióticos 132
Antimicrobianos 132
Antissépticos 132
Aproveitamento de hidróxido de sódio 92
Aquisição de produtos químicos 78
Áreas
  de armazenamento 19
  biolimpas 257
  do laboratório 308
Armazenamento 2
  de agentes carcinogênicos 158
  de substâncias químicas 191
  e transporte de drogas de risco 144
Asfixiantes 188
Aspectos complementares das unidades de produção de imunobiológicos 230
Associação
  Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) 168
  de parâmetros físicos e biológicos 114
  Nacional de Biossegurança (ANBio) 301
Atividades administrativas 16
Atividades e operações insalubres 170
ATMP 254
Autoclaves 195, 226
Avaliação
  de risco 277
    ambiental 277, 280
  do risco químico 183
  e representação de riscos ambientais 22
Aventais 32, 159
Azidas 101

B

Bacillus anthracis 45
Bactérias 53
    ácido-láticas 230
    entéricas que causam diarreia 47
Barreiras de controle 19, 194
Benzeno 189
Bioengenharia 253
Biofármacos 255
Biossegurança 233, 272, 275, 278, 302, 307, 311, 321
    animal nível 1 201
    animal nível 2 202
    animal nível 3 203
    animal nível 4 205
    de bactérias láticas 230
    histórico 295
    na manipulação de OGM 6
    na produção de soros e vacinas 226
    no cenário brasileiro 299
    no manejo de vírus 313
      HIV 313
      vírus das hepatites 313
    no trabalho com vírus 312
Biosseguridade 301, 302
Biotecnologia 299
    de plantas 207
Biotério de produção e experimentação da USP 185
Bioterrorismo 314
Biotransformação dos xenoquímicos 214
Boas Práticas
    de Ampliação de Escala (BPAE) 220
    de Fabricação (BPF) 2, 233
    de Laboratório (BPL) 135, 233
    de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias 238
    Operacionais 239
Boroidretos alcalinos 45
Borrelia spp. 241
Brainstorming 7

C

Cabine
    de fluxo laminar 35
    de segurança
      biológica 219, 221
      com sistema de lavagem de gases 35
      de uso geral 34
      tipo *walk in* 35
Cádmio 191
Cálculo de blindagem 111
Cálculo de dose 119
Campos elétricos 5
Camundongo 196
Câncer
    fatores de risco 155
    no ambiente laboratorial 156
    prevenção 156
Capacetes de segurança 115
Capacitação de recursos humanos 300
Características da planta física e das instalações do laboratório 133
Caracterização do risco 277
    na manipulação de medicamentos, correlatos e cosméticos 100
Carcaças de animais 199
Carcinogênese 151
Carcinogen exposure 156
Carcinógenos 160
    exógenos 153
Carex 156
Catalizadores de hidrogenação 10
Células-tronco 254, 267
    embrionárias 268
    hematopoiéticas 267
    pluripotentes induzidas (iPSC) 269
Center for Disease Control and Prevention (CDC) 44
Centrifugação 221
Centro
    de Controle de Doenças dos Estados Unidos 295
    de Tecnologia Celular (CTC) 253, 270
Certificado de Qualidade em Biossegurança 172
Cetonas 104
Chumbo inorgânico 187
CIBio – Comissão Interna de Biossegurança das organizações 165
Cilindros de gases 10, 11
    comprimidos inertes e combustível 43
Cinco sensos 236
Classificação de risco dos agentes infecciosos 52
Classificação
    de Spaulding para germicidas químicos 38
    dos tipos de incêndios 83
    Merck para recipientes coletores de resíduos químicos 93
Cloreto de sódio 125
Clorofórmio 189
Codex Alimentarius 62
Coletor
    centrífugo 62
    com placa perfurada de superfície para amostragem de ar 61
    de fenda por impacto 60
    de impacto com peneiras de multiestágio 60
    de May 62
    por filtração 61
    por impacto em cascata 10
Colheita de sangue 30
Comissão
    Interna de Biossegurança 171
    Interna de Prevenção de Acidentes 169
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) 93, 165
Comitê Assessor para DNA recombinante 296

Compatibilidade química 101
Compostos
de fósforo 56
liberadores de cloro ativo 101
organometálicos sensíveis à hidrólise e dissolvidos em solventes orgânicos 57
quaternários de amônio 55
Comunicação de risco 278
CONAMA 167
Concentração
do agente químico e tempo de exposição 54
dos gases poluentes 194
Condições sanitárias e de conforto nos locais de trabalho 170
Conferência de Asilomar 296
Conselho Nacional de Biossegurança 171
Constância de propósitos 234
Constante de decaimento 48
Contaminação com protozoários e helmintos 7
Contaminantes do ar 25
Contato elétrico acidental 22
Contenção
biológica 218
primária 218
secundária 218
terciária 218
Controle
de contaminação por produtos biológicos 121
de qualidade 261
radiológico de trabalhadores 20
Cores
adotadas para delimitar áreas do laboratório 11
de identificação de cilindros de alguns gases 116
Correlação entre a dose equivalente e a incidência de câncer 44
Cromatógrafos líquidos e a gás 36
Cromo 191
CSB com fluxo de ar vertical 36
CSB com fluxo horizontal 44
Cuidados básicos para o uso de animais de laboratório 196

D

Danos físicos e perigos químicos 198
Delegação de competência 236
Derramamentos 144, 216
de material biológico 25, 317
de produtos químicos 25
de solventes 75
Descarte de 142
carcinógenos 161
fenol e soluções com fenol 98
materiais 199
material biológico 63
metais pesados 92
resíduos 263
Descontaminação 14
de carcinogênicos 160
de grandes áreas 53
de superfícies 54
e limpeza 52
em laboratórios de microbiologia 52
Desinfecção 14, 51
de nível alto 52
de nível baixo 52
de nível intermediário 52
Desinfetantes 132
Desintegração 109
Destinação de embalagens e recipientes 91
Dextrose 93
Diagrama
de causa e efeito 242
de dispersão 245
de Pareto 241
Diclorometano 187, 189
Disposição de metais pesados 88
Disposição final em aterro químico classes I e II 85
Dispositivo lavador 102
Dispositivos especiais (*sprinklers*) 41
Documentação técnica 256
Doença de Chagas 49
Doença de Parkinson 268
Domesticação do trigo 286
Dose equivalente 114
comprometida 117
e sua fórmula de cálculo (Sievert - Sv) 115
Dosimetria 113
Drogas citotóxicas 134
Drogas de risco 144

E

Edificações 169
Efeito
biológicos da radiação 114
Compton 110
da taxa de dose 114
fotoelétrico 110
gerais dos metais pesados 190
Embalagem de produtos farmacêuticos 132
Embalagens de PEAD 83
Emergências com o envolvimento de carcinogênicos 161
Emissão de aerossol potencialmente perigoso 25
Emissão de partícula beta 109
Emissões radioativas 108
Engenharia de tecidos 253
Engenharia genética 193, 285
Enquadramento dos laboratórios de biociências 120
Ensino 1
Envase e/ou acondicionamento 132
Environmental Protection Agency 142
Epidemiologia ambiental 332
Epigenética e carcinogênese 154

Equipamentos 14, 220, 259
de baixa temperatura 3
de emergência 25
de emissão de ultrassom 11
de engrenagem e de sistema de trituração 11
de micro-ondas 12
de Proteção Individual (EPI) 159, 169, 184
para organismos geneticamente modificados 37
de Proteção Coletiva (EPC) 34
de proteção contra incêndios 38
de segurança 37
barreiras primárias 201
de vidro 9
e instrumentos perfurocortantes 9
sonoro 16
que geram calor ou chamas 2
que utilizam gases comprimidos 10
Equivalência substancial 127
Ergonomia 170
Escherichia coli 44
Espaçamento da irradiação no tempo 114
Espaço e circulação 18
Espectrofotômetros de absorção atômica 10
Espectrômetros de massa 10
Estantes ou gabinetes ventilados 194
Ésteres 87
Esterilização 51
Estireno 187
Estratificação 243
Etanol 55
Éteres 86
Exaustão 230
Experimentos com animais 159
Exposição ao agente carcinogênico 155
Exposição ocupacional na manipulação de drogas de risco 135
Extinção do fogo 39
Extintores de incêndio 39
de água pressurizada 39
de carreta 41
de CO2 40
de espuma mecânica 40
de espuma química 39
de pó químico seco 40

F

Fenóis sintéticos 57
Ferimento 307
Fermentação 220
Ficha de Informações sobre Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) 15
Filtração 222
Filtro HEPA 140
Filtros de alta eficiência 138
Fluoreto inorgânico 101
Folha de verificação 244
Formaldeído 56
paraformaldeído 53
Fotometria de emissão 10
Fóton 110
Frascos 3
liofilizado 44
Fulerenos 334
Funcionamento do lavador de gases 103
Fundamento básico da biossegurança 2
Fungos 53

G

Garantia da qualidade 234, 236
Gás de dióxido de cloro 54
Gases 223
vapores 187
Gel de agarose 12
Genes
deletados ou bloqueados 6
piramidados 129
Genoma dos OGM 280
Geradores de calor muito elevado 3
Gerência de processos 235
Gerência participativa 235
Gerenciamento de produtos e resíduos químicos 78
Gerenciamento do passivo 91
Gestão
da qualidade 233
das comissões internas de biossegurança 171
de riscos 277, 278
Giardia lamblia 49
Glutaraldeído 56
Gráficos de controle 246
Grau de satisfação 235
Grupo de agentes químicos 187
Grupo de risco dos gases 11

H

Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) 233, 238, 250
Helmintos intestinais 49
Herbicidas 289
Hidrante 41
Hidreto de alumínio e lítio 100
Hidretos alcalinos, alcalimidas, dispersões metálicas 100
Hidrocarbonetos alifáticos 87
Hidrocarbonetos aromáticos 87
High efficiency particulate air 138
Higiene pessoal e equipamentos de segurança 19
Higienização 219
das mãos 16
de superfícies e equipamento 310
Hipoclorito como desinfetante 92
Histograma 244

I

IBGE 282
Identificação 63
da periculosidade das substâncias químicas 184
das áreas do laboratório em que os carcinogênicos são utilizados 158
das substâncias carcinogênicas 156
do sistema 224
dos riscos no laboratório e formas de prevenção 191
e rotulagem de produtos e resíduos químicos 79
Iluminação 18
Inativação química 225
de drogas de risco 143
térmica 224
Incêndios 38
Incêndios em laboratórios
cuidados para evitar 41
fontes causadoras 41
Incineração 90
via plasma 86
Incompatibilidade
de produtos químicos 72
de resíduos químicos 75
de substâncias 73
Índice biológico máximo permitido 187
Indústria
farmacêutica 303
de soros e vacinas 228
de vacina 227
químico-farmacêuticas 227
Infecção por
contaminação bacteriana 45
contaminação com vírus 50
fungos 50
Infecções adquiridas em laboratório (IAL) 311
origem dos casos 311
Ingestão acidental de material perigoso 59
Inoculação acidental, cortes e lesões 287
Inserção do transgene 201
Insetos 194
Instalações 201
barreiras secundárias 230
elétricas 170
e serviços em eletricidade 138
e sistemas de segurança 257
Instruções de uso para os Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC) 257
Instruções de uso para os Equipamentos de Proteção Individual (EPI) 58
Instrumentos de amostragem de ar 226
Integração
procedimento *versus* treinamento 184
com o organismo 109
Interação
da radiação
com a matéria 115
nos tecidos e a produção de radicais livres 183
entre substâncias químicas estranhas ao organismo 184
Interações possíveis entre os agentes químicos e o organismo e efeitos tóxicos resultantes 74
Inter-relação entre substâncias incompatíveis 107
Iodóforos 188
Irritantes fortes 194

J

Janelas 18

K

Knock out 6

L

Laboratório
de biologia molecular 321, 327
armazenamento de amostras 327
armazenamento de reagentes 327
de pesquisa e clínico 10
Lavador de gases 103
Legislação 165, 168
Brasileira de uso de radioisótopos 120
do Estado de São Paulo 167
do Município de São Paulo 168
Federal 166
Geral 166
Geral, Normas Técnicas (NBR) 165
para o trabalho com OGMs 170
Lei
de Bergonie e Tribondeau 115
de Biossegurança 269
Brasileira 297
do Inverso do Quadrado da Distância 118
Leishmania 48
Leptospira interrogans 46
Leucemia 268
Limites de tolerância de exposição do trabalhador a agentes físicos, químicos e biológicos 186
Limpeza
das áreas do laboratório 14
das bancadas 325
desinfecção, esterilização e descontaminação 51
Linhas de serviço 18
Líquidos combustíveis e inflamáveis 170
Líquidos voláteis 8

M

Macacões 202
Manejo de vírus transmitidos pelo sangue 313
Manganês 187

Manipulação
de agentes carcinogênicos 159
de amostra de sangue 10
de drogas de risco 145
de material infeccioso 308
de produtos químicos 1
genética de produtos 123
Manuais de biossegurança 257, 296
Manual da Qualidade 236, 256
Manuseio
de animais de laboratório 202
de produtos químicos perigosos 71
e armazenamento de produtos químicos 15, 103
e o transporte de vidrarias e de outros materiais 14
Mapa de risco do local de trabalho 191
Máquinas e equipamentos 170
Máscara de proteção total da face 32
Materiais
biológicos 15
armazenamento 260
coleta 260
exposição 260
manipulação 260
processamento 260
recebimento 261
transporte 262
de descarte 204
e reagentes 259
nanoparticulados 336
no laboratório 309
radioativo 131
Medicamentos biológicos 255
Medicamentos, correlatos e cosméticos 16
Medidas
de controle e proteção 17
de higiene e conforto 16
de proteção coletiva 16
de proteção individual 17
organizacionais 185
preventivas e de controle da exposição a agentes químicos 95
Medula óssea 267
Meio ambiente 275
Mensuração do risco 278
Mercado nanotecnológico 332
Mercúrio metálico 190
Metais pesados 187
Metanol 248
Método
de amostragem de ar 83
de identificação de produtos químicos 101
de solução de problemas 59
para tratamento de outras substâncias 101
corrosivas 101
oxidantes 100
pirofóricas 101
redutoras 53
Micobactérias 48
não tuberculose (MNT) 195
Microisoladores 214
Microrganismos indesejáveis 166
Ministério da Saúde 2
Ministério do Meio Ambiente 18
Mobiliário e revestimento 117
Modelo
de curvas de dose *versus* efeito 173
de formulário de roteiro de inspeção de laboratório 176
de identificação de segurança em laboratório 111
Moléculas marcadas e radiofármacos 223
Monitoramento da integridade do sistema 58
Monitoramento e controle de riscos biológicos 187
Monóxido de carbono 47
Mutagênico 287

N

Nano 334
Nanomateriais 338
Nanopartículas 331, 334, 339
biocinética 338
de metais 335
de óxidos metálicos 335
dose 336
efeitos biológicos e ambientais 334
fulerenos 334
nanotubos de carbono 334
propriedades físico-químicas 337
Nanotecnologia 332
Nanotoxicologia 333, 336
Nanotubos de carbono 334
Não aceitação de erros 234
N-hexano (ou benzina) 189
Nitrato de prata 93
Níveis
de biossegurança 200
de biossegurança 1 (NB-1) 37
escala ampliada (NS1-EA) 215
de biossegurança 2 (NB-2) 37
escala ampliada (NS2-EA) 216
de biossegurança 3 (NB-3) 37
escala ampliada (NS3-EA) 216
de biossegurança 4 (NB-4) 37
de contenção física para risco biológico 20
de operação 214
de risco associados com o uso de animais de laboratório 200
Norma
CNEN-3.01 121
de biossegurança 271
de higiene 196
para descarte de produtos infecciosos 62

para eliminação por incineração 86
para trabalho em contenção com animais geneticamente modificados 208
reguladoras de segurança e saúde no trabalho 135
regulamentadoras 169
de segurança e saúde no trabalho 165, 169
técnicas (NBR) 168
Normatização 68
Novos alimentos geneticamente modificados 129

O

Objetos cortantes 200
Obtenção de amostras de aerossóis bacterianos 58
Obtenção de dados de segurança relativos ao uso de carcinogênicos 157
Occupational Safety and Health Administration (OSHA) 29, 132
Óculos de segurança 30, 144
Ondas de rádio 5
Organismos geneticamente modificados (OGM) 5, 165, 295
no Brasil 298
Organização das atividades no laboratório 13
Organização estrutural e operacional do laboratório 17
Organolítios e reagentes de Grignard 100
Orientação para descarte de solventes 100
Oxidantes 104

P

Padrão sanitário de organismos geneticamente modificados 195
Padronização
dos animais 195
genética 195
nutricional 195
sanitária 195
Paredes, teto e pisos 18
Parte hidráulica 230
Partícula alfa 109
Periculosidade dos ânions mais comuns 77
Periculosidade dos íons mais comuns 75
Peróxido de hidrogênio 97
Perspectiva do risco 297
Pesquisa 1
Pessoal de apoio 16
Pipetagem 44, 323
com a boca 16
Placas coletoras por sedimentação 59
Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) 263
Plantas geneticamente modificadas (PGM) 124, 285
Plantas transgênicas 7
Plasmodium spp. 44, 49
Poliovírus 44
Politetrafluoretileno 133
Política Nacional de Biossegurança (PNB) 30, 171
Ponto Crítico de Controle (PCC) 238
Portas 18
Potássio metálico 100
Práticas
de biossegurança 2
especiais 207
seguras no laboratório 13
Pressões anormais 4
Prevenção de incêndio 19
Prevenção de infecção por vírus 312
Primatas 197
Principais
fatores que influenciam na absorção 185
medidas de proteção no laboratório 17
riscos ocupacionais 20
Princípios da esterilização e desinfecção 51
Procedimentos
de descarte de produtos biológicos (NR32) 62
de emergência 23
de segurança em situações de emergência 25
em laboratórios 309
gerais para tratamento de resíduos 84
operacionais padrão 191, 202
para descarte definitivo 64
para diversos aspectos do uso de carcinogênicos 161
para reciclagem ou degradação de solventes 98
Processos biotecnológicos 213
Produção
de pares 110
de soros 228
Produção de vacinas
de DNA 229
em culturas de células 229
em fetos de roedores 229
em ovos embrionados 229
Produto final 223
Produtos
de engenharia de tecidos 255
de terapia celular 255
medicinais em terapia avançada 253
Programa
ambiental 5S 233, 236
implantação do 5S 238
da qualidade 233
total 250
de biosseguridade 303
de controle médico de saúde ocupacional 169
de controle sanitário para primatas 198
de intercâmbio de produtos químicos perigosos 79
de necessidades 18
de prevenção de riscos ambientais 170
de segurança 21
e saúde 196

de vigilância médica 147
Nacional de Toxicologia (NTP) 157
Projeto
arquitetônico 18, 218
de construção 18
de construção (edificação) 17
de inativação biológica 225
de segurança 21
Proteção
auricular 32
coletiva 17
contra incêndios 170
do ambiente de trabalho 308
dos membros inferiores (pés e pernas) 33
dos membros superiores (mãos e braços) 33
individual 17
radiológica e dosimetria 112
Protetores
faciais 30
para a cabeça 30
para o tronco 32
respiratórios 31
Protocolos práticos para inativação de produtos perigosos 92
Protozoários intestinais 49
Protozoários teciduais e sanguíneos 48

Q

Qualidade da radiação 114
Qualidade total 233, 234, 238
Quebra de frascos contendo material biológico 25
Quebra de tubos durante a centrifugação 25
Quimioterápicos 132

R

Radiação 109
infravermelha 5
ionizante 15, 135
não ionizante 4
ultravioleta 4
Radioatividade 112
Radioisótopos 107
Radiossensibilidade das células 114
Raios *laser* 5
Raios X 112
Reavaliação dos procedimentos adotados referentes ao uso seguro de carcinogênicos 162
Reciclagem 90
Recipiente para descarte de resíduos carcinogênicos 161
Recipientes de coleta, armazenamento e transporte 82
Recombinação genética 123
Recombinação gênica 123
Recuperação
de materiais de lodos galvânicos por meio de plasma térmico 102
de solventes em escala industrial 87
de solventes em laboratório 88
Rede Nacional de Terapia Celular 270
Referências para tratamento de resíduos químicos 90
Relação dose-efeito 184
Relação risco/benefício no uso de materiais radioativos 117
Relatório de análise de riscos de um laboratório de pesquisa 24
Remoção de derramamentos acidentais de drogas de risco 143
Resfriamento 39
Resíduos de embalagens de produtos químicos 102
Resíduos sólidos de processos cromatográficos 102
Resistência aos produtos químicos germicidas 53
Ressonância magnética nuclear 10
Rickétsias 48
Risco
ambiental de OGM 284
biológicos 20, 196, 217
atuais 227
no ambiente de trabalho laboratorial 5
concretos à biodiversidade 281
de acidentes 9
de câncer no ambiente laboratorial 155
de contaminação 308
e biossegurança na utilização de tecnologia de DNA recombinante 5
ergonômicos 8
físicos 2
ocupacional 134
químicos 7, 217
Roedores 201
Roentgen 112
Rompimento celular 222
Ruídos e vibrações 4

S

Sais de
cádmio 94
chumbo 94
cobre 93
níquel 96
prata 93
selênio 96
Sais de DNA
aparelhos utilizados 322
Salas
biolimpas 44
de DNA 322
de PCR em tempo real 323
de pós-PCR 326
de pré-PCR 323
de RNA 325
geral 324
autoclavação 324

Salmonella typhi 267
Sangue do cordão umbilical e da placenta (SCUP) 166
Secretaria de Vigilância Sanitária 79
Segregação de resíduos químicos 220
Segurança 128
    do consumidor 124
    dos alimentos 124
    e inocuidade dos alimentos 13
    nas atividades laboratoriais 70
    no armazenamento e no manuseio de produtos e resíduos químicos 237
Seiketsu 237
Seiri 237
Seisou 237
Seiton 223
Selos rotativos 25
Senso
    da autodisciplina 237
    de classificação 238
    de conservação 238
    de ética e moral 237
    de limpeza 237
      e inspeção 237
    de ordenação 237
    de organização 237
    de saúde 23
Serviço de emergência 169
Serviço Especializado em Engenharia de Segurança e em Medicina do Trabalho (SESMT) 44, 116
Shiguella ssp. 238
Shitsuke 129
Sievert 16
Símbolo
    de alimento geneticamente modificado 16
    de identificação de classes de produtos químicos 220
    de identificação de material infectante (risco biológico) 120
    de identificação de material radioativo 158
    internacional de radiação 15
    para a identificação da área de trabalho com carcinogênicos, 217
    universal de risco químico ou biológico 170
Sinalização 225
    de segurança 225
Sistema
    contínuo 194
      de inativação térmica de resíduos biológicos 240
    da gestão ambiental (SGA) 222
    de barreiras locais 256
    de garantia da qualidade 262
    de tratamento de água 19
    de tratamento dos gases de saída de um fermentador 6
Sistemas
    de comunicação 125
    de expressão biológica 225
    de qualidade para alimentos derivados de OGM 221
    descontínuos 19
    fechados 100
Sobrecargas 8
Sódio metálico 101
Sólidos 87
Soluções de ácido pícrico 189
Solventes
    clorados 104
    orgânicos 44
    voláteis e inflamáveis 228
Sonicador 46
Soros homólogos 47
Staphylococcus spp. 8
Streptococcus spp. 8
Substâncias
    cancerígenas 132
    corrosivas 7
    de alta potência e/ou que apresentem efeitos colaterais intensos 8
    explosivas 7
    inflamáveis 7
    irritantes e nocivas 163
    oxidantes 7
    químicas carcinogênicas 164
    tóxicas e altamente tóxicas 97
    tóxicas ou químicas 304

T

Tecnologia do DNA recombinante 123
Terapia
    celular 253, 254, 267, 270
    com células vivas 253
    gênica 254
Terapias avançadas 253
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) 260
Termo de Responsabilidade 179
Teste para verificação de peróxido 102
Tetracloroetano 189
Tetracloroetileno 189
Threshold limit values 186
Tioéteres na urina 136
Tolueno 190
Toxicidade dos cátions mais comuns 77
Toxicologia 184
Toxoplasma spp. 49
Trabalho em laboratórios e o risco de câncer 155
Transferências 223
Translocação 332
Transmissão da infecção através do meio ambiente 51
Transporte de produtos infectantes 310
Tratamento 90
    acústico 19

de gases e vapores 88
no laboratório 88
de gases e voláteis em laboratórios 102
de resíduos 224
de ácidos em soluções aquosas 93
de bases 75
de solventes 86
Treinamento
do pessoal 161
em segurança de laboratório 23
e sensibilização 79
Treponema pallidum 44
Trialquil-alumínio 100
Triângulo do sistema de integração de plantas industriais 226
Tricloroetileno 189
Tripanossoma cruzi 49

U

Umidade 4
Unidade de medida da atividade radioativa 108
Uniformes 202
Uniformes, aventais e outras vestimentas de trabalho 16
Uso seguro de substâncias carcinogênicas 156

V

Validação 224
Vapor de peróxido 54
Ventilação 220
Ventilação e exaustão 19
Vestuário 220
Vetores virais 6
Vias de absorção de substâncias químicas 185
Vias de entrada de agentes químicos no organismo 184
Vibrio cholera 44
Vigilância médica 309
Vírus 53
da encefalite 44
do sarampo 44
Influenza A2 44

X

Xenobióticos 183
Xenoquímicos 183
Xileno 190

Z

"Zero defeito" 236
Zinco 191
Zoonoses 197

Manual de BIOSSEGURANÇA

A linguagem da biossegurança, idealizada de modo simples e objetivo, é novamente a principal meta desta obra, em sua 2ª edição, ampliada e revisada. Ampliada porque conta com a participação de 42 colaboradores na elaboração dos seus 22 capítulos sobre biossegurança, dos quais oito são novos:

- Garantia da qualidade e biossegurança em centros de tecnologia celular para fins de pesquisa clínica e terapia celular e molecular
- Biossegurança em centros de tecnologia celular
- Biossegurança e meio ambiente
- Objeções às plantas geneticamente modificadas
- Memórias da biossegurança: de Asilomar à biologia sintética
- Biossegurança em laboratório de virologia
- Biossegurança em laboratórios de biologia molecular
- Biossegurança em nanotecnologia

Rico em ilustrações e exemplos práticos, o *Manual de biossegurança*, 2ª edição, está fundamentado na experiência de professores que procuram e pesquisam caminhos alternativos para simplificar e tornar agradável o trabalho do dia a dia no laboratório de ensino e de prestação de serviços. A visão multidisciplinar é a principal característica deste livro, que tem como objetivo atender alunos, técnicos, professores e funcionários da área administrativa; pessoas que participam da nobre jornada de lecionar, utilizam o laboratório e manipulam materiais biológicos, com potencial para transmitir infecções, e produtos químicos perigosos.

Manole